

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16145

研究課題名(和文) 微生物機能を活用した化合物半導体廃棄物からのカルコゲン元素回収プロセスの開発

研究課題名(英文) Development of a process for chalcogen recovery from semiconductor waste materials utilizing microbial activity

研究代表者

黒田 真史 (Kuroda, Masashi)

大阪大学・工学研究科 ・助教

研究者番号：20511786

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：カルコゲン元素(セレン、テルル)を含む化合物半導体は、近年、太陽電池等として盛んに利用されているが、一方、その資源循環経路が確立されていないことが問題となっている。本課題では、活発なカルコゲン代謝細菌であるNT-1株を活用したカルコゲン回収技術の開発に向け一連の研究を行った。CIGS太陽電池模擬抽出液を用いた検討により、中和処理とNT-1株によるセレン酸化物イオンの還元により、他の金属を含む溶液からセレンを回収できることが明らかとなった。また、排気ガスのトラップを備えたりアクターを用いた試験により、NT-1株はセレンのみならず、テルルについても活発に揮発できることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Along with the recent growth of demand for chalcogenide (selenide, telluride) semiconductors, which is used as solar cells, etc., establishment of resource recycling pathway for chalcogenide semiconductors are becoming a pressing issue. In this project, a series of studies aiming the development of a chalcogen recycle process utilizing *Pseudomonas stutzeri* NT-1, an active chalcogen-metabolizing bacterium, was conducted. By applying neutralization and NT-1 cultivation, successful recovery of selenium from simulated CIGS solar cell extract was achieved. Cultivation of strain NT-1 in a bioreactor equipped with exhaust gas trap revealed that strain NT-1 has highest tellurium volatilization activity among bacteria previously reported.

研究分野：環境生物学

キーワード：semiconductor selenium tellurium resource recycling biovolatilization

1. 研究開始当初の背景

近年、低炭素社会の実現に向けて再生可能エネルギーの導入促進が強く求められている。カルコゲン元素、すなわち、硫黄、セレン (Se)、テルル (Te) 等の第 16 族元素は、第 12 族元素等と結びつくことにより、化合物半導体として特殊な性能を発揮する性質から、CIGS (Cu-In-Ga-Se) 系太陽電池や CdTe 太陽電池の素材として用いられている。これらの太陽電池は、シリコン系太陽電池と比較して製造時の消費エネルギーが少なく安価であるという利点があり、現在、生産が急速に増大している。従って、カルコゲン元素を含む化合物半導体は、来るべきクリーンエネルギー社会を担う極めて重要な材料であると言え、今後、さらなる生産の拡大が見込まれる。

一方で、カルコゲン元素を含む化合物半導体の資源循環経路は確立されていない。これまでに報告されているリサイクルプロセスとしては CIGS 系太陽電池の例が挙げられるが、これは、硫酸等の酸によって金属を溶出させた後、中和によって Cu、In、Ga を不溶性水酸化物として回収し、水溶性の高いオキソアニオンである SeO_4^{2-} として残る Se を電気還元によって回収することを基本としている。しかし、現実には SeO_4^{2-} の電気還元に必要なエネルギーとコストを要するために、このプロセスは商用規模では経済的に実現不可能であると考えられている。すなわち、Se や類似の化学特性を持つ Te は酸化物として水相に移行すると、既存技術で回収することが極めて難しいことから、これらを安価かつ確実に回収する新たな技術を確立することが、化合物半導体に含まれるレアメタル類全ての資源循環を促進するものと考えられる。化合物半導体を利用した製品の大量生産が始まった現在だからこそ、これらのリサイクルプロセスの開発が強く求められているものと言える。

2. 研究の目的

我々の研究グループはこれまで、有害物質でもある Se 含有廃水の浄化プロセスの開発を目指し、カルコゲン元素を代謝する特殊な微生物を取得・解析してきた。我々が取得した Se 代謝細菌 *Pseudomonas stutzeri* NT-I は、水相における Se の主な形態である SeO_4^{2-} (Se(VI)) を SeO_3^{2-} (Se(IV)) に、また SeO_3^{2-} を水相から分離除去可能な不溶性の元素態 Se (Se⁰) や揮発性の Se 化メチル化合物に変換し、水中から除去する能力を持つ¹⁾²⁾。また、Te 代謝細菌についても複数株を取得しており、 TeO_4^{2-} を元素態 Te にまで還元し除去できることを明らかにしている³⁾。これらの生物作用によって形成される元素態 Se/Te は水に不溶であるため固液分離により水から除去・回収可能であり、有機物を燃焼等により除去することで、再資源化可能な純度の Se や Te が得られると期待される。また、揮発

性の Se 化メチル化合物は、濃硝酸等によりトラップすることで高純度に回収できることが知られている。これらの手法を含カルコゲン化合物半導体からの Se/Te の回収に用いることができれば、これら元素の資源循環経路の確立と、さらには、含カルコゲン化合物半導体用いた太陽電池の普及の促進にもつながると期待される。本研究は、化合物半導体廃棄物からカルコゲン元素回収プロセスの創成に向けて、Se の除去・回収への NT-I 株の適用性の評価、NT-I 株のテルル揮発化能力の評価、およびプロセスのさらなる効率化を目指したカルコゲン元素代謝機構の解明を行った。

3. 研究の方法

(1) CIGS 太陽電池廃棄物模擬抽出液からの Se の除去・回収

酸化銅、In、Ga、Se の各粉末をそれぞれ、濃硝酸、希硝酸、王水等を用いて完全に溶解した。これらの酸溶解液を CIGS 太陽電池に用いられる化合物半導体の一般的な組成 ($\text{CuIn}_{0.8}\text{Ga}_{0.2}\text{Se}_2$) を模擬して、終濃度が Cu 5 mM、In 4 mM、Ga 1 mM、Se 10 mM となるように混合したものを CIGS 太陽電池廃棄物模擬抽出液として実験に用いた。これを、水酸化ナトリウムを用いて徐々に中和し、生じた沈殿物及び上清に含まれる金属成分を誘導結合プラズマ-発光分光分析装置 (ICP-AES) を用いて測定した。

続いて、中和後に得られた上清と滅菌した Trypticase Soy Broth 培地 (TSB 培地) を 1:4 の割合で混合し、50 mL 容バイアルビンに分注した。TSB 培地を用いて前培養した NT-I 株を添加し、120 rpm の回転振盪培養を 28 °C で 1 週間行った。継時的に試料を採取し、ICP-AES により含まれる金属成分を定量した。

(2) *P. stutzeri* NT-I の Te 揮発化能力の評価

リアクターを用いて好氣的に NT-I 株を培養し、液相から固相・気相への Te の移動を経時的に定量した。1 L 容ジャーファーマーターに 0.1 mM の TeO_3^{2-} (Te(IV)) を含む TSB 培地を添加した。NT-I 株の前培養液を OD₆₀₀ が 0.02 となるように懸濁し、好氣的に培養した (28°C、攪拌速度; 250 rpm、通気量; 1 L/min)。揮発性 Te 化合物を捕集するため、リアクターからの排気を 300 mL 容ガス洗浄瓶に分注した 150 mL の濃硝酸に通気した。ガス洗浄瓶とジャーファーマーターは PTFE チューブで接続した。誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP-AES) を用いて、液相、固相、および濃硝酸中の Te 量を測定した。また、対照系として無菌条件で同様に運転した。

(3) *P. stutzeri* NT-I の Se 代謝のトランスクリプトーム解析

1mM の Se(VI) または Se(IV) を含む TSB 培地 20 ml に OD₆₀₀ = 0.6 となるように *P. stutzeri* NT-I を接種し、Se(VI) を添加した実験系については、0.5 時間、1 時間、および

24 時間後、Se(IV)を添加した実験系については 0.5 時間と 1 時間後に培養液を採取した。RNAprotect Bacteria Reagent (Qiagen)を用いて RNA の安定化と total RNA の抽出を行った。次に RiboMinus (Thermo)を用いて ribosomal RNA を除去した後、Ion Total RNA-Seq Kit v2 (Thermo)を用いてライブラリを作製した。エマルジョン PCR でテンプレートを作製し、次世代シーケンサー (Ion PGM, Thermo)を用いた RNA-Seq を行った。

4. 研究成果

(1) CIGS 太陽電池廃棄物模擬抽出液からの Se の除去・回収

CIGS 太陽電池廃棄物模擬抽出液を水酸化ナトリウムで pH7.4、9.6、および 11 に中和し、生成した沈殿物と上清の金属濃度を ICP-AES を用いて測定したところ、全ての条件において Cu、In は沈殿して固相に移行した。一方で、Ga と Se は pH7.4 では両者とも約 40%が沈殿して固相に移行し、pH9.6 および 11 ではほぼ全量が液相に溶解していた。

これらの中和液上清と TSB 培地の混合液中で NT-I 株を培養することで、Se の除去を試みた。その結果、NT-I 株は水相の Ga 濃度を変化させなかった一方で、24 時間目までにほぼ全量の Se を水相から除去し、固相に移行した。また、固相に除去された Se は 168 時間目までに液相・固相の両方から消失したことから、揮発化されたものと考えられた。以上の結果を踏まえて提案される CIGS 太陽電池廃棄物のリサイクルプロセスの模式図を図 1 に示す。CIGS 太陽電池廃棄物から適当な酸を用いて金属類を溶解させ抽出する。CIGS 太陽電池に含まれるガラス等はこの操作により残渣として分離されると推定される。金属類の抽出液を水酸化ナトリウム等を用いて中和することにより、含まれる Cu や In は沈殿物として回収され、Se と Ga は上清に残る。この上清をさらに NT-I 株を用いた生物処理に供することで、Se は沈殿物または揮発化物として回収され、Ga は溶液として回収される。実際の廃棄物を用いてさらにプロセスの検討を進める必要はあるものの、本研究で実証した NT-I 株を用いた Se の回収は、本プロセスのコア技術として十分期待できるものと考えられる。

(2) *P. stutzeri* NT-I の Te 揮発化能力の評価

結果を図 2 に示す。培養時間 12 時間以降に固相 Te 量が減少し、気相から濃硝酸中に回収された Te 量が増加した。この結果は、NT-I 株が Te(IV)を Te⁰にまで還元し、その後、さらに揮発性 Te に変換する能力を有することを示唆している。また、168 時間培養後に濃硝酸中に回収された Te 量は 35 μmol であり、これは、初期 Te 添加量の 57%に相当する。なお、対照系である無菌条件では Te の変化が生じなかったことから、Te(IV)の還元および揮発化は NT-I 株によって生じたことが確認された。これまでに報告されている Te

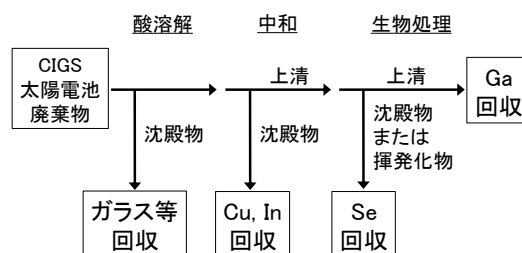


図 1 提案される CIGS 太陽電池廃棄物のリサイクルプロセスの模式図。

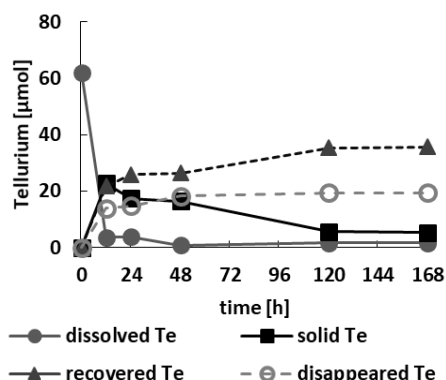


図 2 NT-I 株による Te(IV)の還元と Te の揮発化による回収。

揮発化微生物の中で最も優れたものでも、初期 Te(IV)添加量に対して数%程度しか揮発化しておらず、今回確認された NT-I 株による Te の揮発化能力は極めて優れたものであると言える。

(3) *P. stutzeri* NT-I の Se 代謝のトランスクリプトーム解析

P. stutzeri NT-I は化合物半導体廃棄物からカルコゲン元素を回収する細菌として極めて有望であることが明らかになったことから、プロセスのさらなる効率化に向けた知見の集積を目指して、NT-I 株の Se 回収に関わる代謝の分子機構を解析した。

トランスクリプトーム解析の結果を図 3 に示す。Se の添加に対して特徴的に転写が促進された遺伝子群のクラスターとして I~VII が見いだされ、特に、Se(VI)および Se(IV)のいずれを添加した場合にも転写が促進されたクラスター I には Cysteine desulfurase 等の含硫アミノ酸代謝に関わる酵素の遺伝子が多く含まれており、Se 代謝と硫黄代謝が深く関連していることが示唆された。また、Se⁰の揮発化が生じる時間に相当する Se(VI)添加後 24 時間後には、膜輸送に関わるタンパク質をコードする遺伝子を多く含むクラスターの転写が促進された。これらの遺伝子から、細胞外からの Se の取り込みまたは細胞外への輸送が Se 代謝において重要な役割を担っているものと推測された。これまでに、細菌の活発な Se 代謝の分子機構の全体像を明らかにした例はなく、本研究はその先鞭をつける高い学術的価値を持つものであると言える。

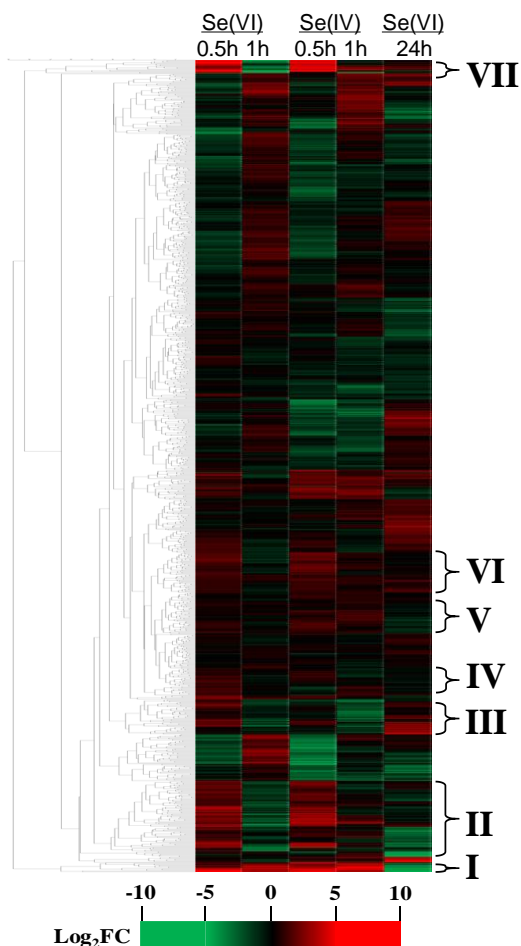


図3 *P. stutzeri* NT-I の Se 代謝のトランスクリプトーム解析結果. I~VII は Se の添加に対して特徴的に転写が促進された遺伝子群のクラスターを示す.

【参考文献】

- 1) Kuroda, M., Notaguchi, E., Sato, A., Yoshioka, M., Hasegawa, A., Kagami, T., Narita, T., Yamashita, M., Sei, K., Soda, S., and Ike, M. (2018) Characterization of *Pseudomonas stutzeri* NT-I capable of removing soluble selenium from the aqueous phase under aerobic conditions. *J. Biosci. Bioeng.*, 112(3): 259–264.
- 2) Kagami, T., Narita, T., Kuroda, M., Notaguchi, E., Yamashita, M., Sei, K., Soda, S., Ike, M. (2013) Effective selenium volatilization under aerobic conditions and recovery from the aqueous phase by *Pseudomonas stutzeri* NT-I. *Water Res.*, 47(3): 1361–1368.
- 3) Kagami, T., Fudemoto, A., Fujimoto, N., Notaguchi, E., Kanzaki, M., Kuroda, M., Soda, S., Yamashita, M., Ike, M. (2012) Isolation and characterization of bacteria capable of reducing tellurium oxyanions to insoluble elemental tellurium for tellurium recovery from wastewater. *Waste Biomass Valor.* 3(4):409-418.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

- ① 池 道彦、惣田 訓、黒田 真史、セレン代謝微生物を利用したセレン含有排水処理技術の開発、環境バイオテクノロジー学会誌、査読無、15巻2号、2016、71-75
<http://www.jseb.jp/jeb/15-02/15-02-071.pdf>

〔学会発表〕(計13件)

- ① 畠中 玄彦、黒田 真史、井上 大介、池 道彦：*Pseudomonas stutzeri* NT-I を用いた水相からのテルル揮発化除去・回収の試み、第52回日本水環境学会年会(2018)
- ② 黒田 真史、櫻井 紫乃、山下 光雄、池 道彦：*Pseudomonas stutzeri* NT-I のセレン酸還元関連遺伝子群の同定と解析、第69回日本生物工学会大会(2017)
- ③ 黒田 真史、櫻井 紫乃、池 道彦：トランスクリプトーム解析による *Pseudomonas stutzeri* NT-I のセレン代謝機構の解析、環境微生物系学会合同大会2017(2017)
- ④ Kuroda M., Sakurai S., and Ike M.: Transcriptome profiles of *Pseudomonas stutzeri* NT-I in response to selenate, selenite, and elemental selenium, IUMS2017 Singapore (2017)
- ⑤ 黒田 真史、櫻井 紫乃、山下 光雄、池 道彦：*Pseudomonas stutzeri* NT-I のセレン代謝機構の分子生物学的解析、第3回日本セレン研究会(2017)

〔図書〕(計3件)

- ① Ike, M., Soda, S., Kuroda, M. Springer, *Bioremediation of selenium contaminated wastewater* (Ed. Eric van Hullebusch) *Bioprocess approaches for the removal of selenium from industrial waste and wastewater*, 2017, 57-73.
- ② Ike, M., Yamashita, M., Kuroda, M. Wiley-VCH, *Wiley Biotechnology Series*, (Ed. Toshiomi Yoshida) *Microbial Removal and Recovery of Metals from Wastewater*, 2017, 573-595.
- ③ 池 道彦、惣田 訓、黒田 真史、シーエムシー出版、バイオベース資源確保戦略—都市鉱山・海底鉱山に眠る貴金属・レアメタル等の分離・回収技術—(小西康裕 監修)、第8章 微生物還元採用を利用したセレン等の固形化回収、2015、66-73

6. 研究組織

(1)研究代表者

黒田 真史 (KURODA, Masashi)
大阪大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：20511786