

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：82101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K12394

研究課題名(和文)レアメタル呼吸細菌を用いた廃水からの結晶構造別アンチモン回収技術の開発

研究課題名(英文) Recovery of morphologically different antimony trioxides from wastewater using rare metal-respiring bacteria

研究代表者

山村 茂樹 (YAMAMURA, Shigeki)

国立研究開発法人国立環境研究所・地域環境保全領域・室長

研究者番号：90414391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：微生物による溶存態アンチモン(Sb)還元・沈殿形成能力を利用したSb回収技術の開発を行った。国内の旧鉱山で採取した土壌から、複数のSb呼吸細菌を単離した。なかでもSb還元能力の高かった *Geobacter* sp. SVR株を用いることで、溶存態Sbのほぼ全量を三酸化アンチモン鉱物として回収できた。SVR株の Resting cellを用いて模擬廃水からの回収実験を行った結果、pH7では斜方晶のバレンチナイト、pH8では立方晶のセナルモンタイトの回収に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、産業活動に伴って生じたSb廃水は、凝集沈殿法などにより処理されているが、概して高コストであり、Sbの回収も困難である。Sb呼吸細菌は、溶存態のSb(V)を還元し、三酸化アンチモン様の沈殿を生成することが報告されているが、詳細なSb沈殿形成能力は謎に包まれている。本研究では、新規Sb呼吸細菌 *Geobacter* sp. SVR株を用いて、結晶構造及び使用用途の異なる二種の三酸化アンチモン鉱物を模擬廃水から別々に回収することに、世界で初めて成功した。

研究成果の概要(英文)：Antimony (Sb) recovery technology was developed using the ability of microorganisms to reduce dissolved antimonate and form precipitates. Several Sb-respiring bacteria were isolated from soil collected from a former mine in Japan. By using *Geobacter* sp. strain SVR, which has high antimonate-reducing ability, almost all of dissolved Sb was recovered as Sb trioxide microcrystals. The experiments using the resting cells of strain SVR resulted in the recovery of orthorhombic valentinite at pH 7 and cubic senarmonite at pH 8 from simulated wastewater.

研究分野：環境工学、環境微生物学

キーワード：三酸化アンチモン アンチモン呼吸細菌 廃水処理 レアメタル資源回収

1. 研究開始当初の背景

アンチモン(Sb)は、周期表上で 15 属に位置する半金属元素であり、レアメタルの 1 つとしても知られている。各種プラスチック・ゴムなどの難燃助剤として、OA 機器や家電、自動車など、数多くの身近な製品に利用されている他、ポリエステル重合触媒、ガラス清澄剤など、幅広い産業分野で用いられている。一方で、急性・慢性毒性を有する有害物質であることから、WHO の飲料水質ガイドラインで基準値 (0.01 mg/L) が定められている。わが国でも水質環境基準の要監視項目として指針値 (0.02 mg/L) が示されているが、Sb 排出事業所や休廃止鉱山付近の河川で、指針値の超過が生じている。さらに、環境省が実施している「化学物質の環境リスク初期評価」において、Sb は詳細な評価を行う候補に位置付けられ、環境中への排出は水域が最も多いと指摘されていることから、将来的に環境基準・排水基準に追加される可能性がある。現在、産業活動に伴って生じた Sb 廃水は、凝集沈殿法などの物理化学的手法により処理されているが、概して高コストであり、また Sb に対する特異性も低い。従って、特に Sb のほとんどを輸入に頼っている我が国では、低コストかつレアメタル資源として回収可能な廃水処理技術の開発が、喫緊の課題であると言える。

2. 研究の目的

自然環境中での Sb の動態は不明な部分が多いが、5 価および 3 価の無機態[Sb(V) : Sb(OH)₆⁻、Sb(III) : Sb(OH)₃]が主な存在形態であると考えられている。また、水環境中においては、溶存態の大部分が Sb(V)で存在するとされている。近年、その環境中での形態変化には微生物の関わりが指摘されているが、廃水処理という観点から、Sb(V)を呼吸基質として還元する Sb(V)呼吸細菌に注目が集まりつつある。Sb 呼吸細菌は、溶存態の Sb(V)を還元し、Sb₂O₃様の沈殿を生成することが報告されているが、Sb₂O₃は工業的需要の大部分を占めていることから、資源回収面からも有用と考えられる。しかし、分離例の少なさから、詳細な Sb 代謝並びに沈殿形成機構は、謎に包まれている。

Sb₂O₃には、結晶構造の異なる 2 種類の結晶鉱物(セナルモンタイトおよびバレンチナイト)が存在するが、それぞれ異なる用途で利用される。八面体様構造を持つ立方晶系のセナルモンタイトは、主に難燃助剤としてプラスチックやゴム製品に幅広く利用されている。一方、蝶ネクタイ様の構造を持つ斜方晶系のバレンチナイトは、そのユニークな光電子化学的性質から、半導体やナノ電子機器材料として注目されている。従って、実利用に向けては、それぞれの結晶鉱物を回収する方法の確立が必要であると言える。そこで本研究では、廃水からの Sb 除去と結晶構造別 Sb₂O₃の生産を同時に可能とする、新たな資源回収型廃水処理技術の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) Sb(V)呼吸細菌の単離と特性評価

国内の旧 Sb 鉱山で採取した土壌を植種源として、5mM の酢酸と Sb(V)を含む無機塩培地で嫌氣的に集積培養を行った。白色の沈殿が生成する集積系を用いて継代を繰り返した後、サンプルを採取し、0.4%寒天を含む培地中でコロニー化させ、Sb(V)呼吸細菌を単離した。単離した菌株を集積培養系と同様の無機塩培地で培養し、Sb(V)還元及び白色沈殿生成の特性評価を行った。また、単離菌株から DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析及びドラフトゲノム解析を行った。

(2) Resting cell を用いた結晶構造別 Sb₂O₃の生成

前項と同様の方法で培養を行った菌体を遠心分離により回収し、緩衝液を用いて 2 回洗浄を行った。回収・洗浄した菌体を 5mM の酢酸と Sb(V)を含む溶液に接種し、異なる pH 条件下で模擬 Sb 廃水からの Sb₂O₃の回収実験を行った。なおこの条件下では、菌体は Sb(V)還元活性は有しているが増殖はしない状態(Resting cell)となっている。

(3) 分析

溶液中の総 Sb 濃度を ICP-MS を用いて測定した。Sb(V)および Sb(III)は、それぞれイオンクロマトグラフィー及び HPLC-ICP-MS により測定した。生成した白色沈殿は、走査型電子顕微鏡 (SEM)で観察し、エネルギー分散型 X 線分析(EDS)により構成元素の定性を試みた。また、X 線回折(XRD)による結晶構造の解析を行った。

4. 研究成果

(1) Sb(V)呼吸細菌の単離と Sb(V)還元能の比較

集積培養系より、3 種の Sb(V)還元能を有する細菌、*Geobacter* sp. SVR 株、*Desulfosporosinus* sp. B-3 株、*Desulfitobacterium* sp. E-1 株を単離した。これらの菌株を用いて、培養液中の pH を 6~8 に変化させて Sb(V)還元実験を行ったところ、SVR 株と B-3 株は、いずれの pH でも 7 日間ではほぼ全ての Sb(V)を還元した。一方、E-1 株は pH8.0 において、還元能の低下がみられた。SVR 株

は、Sb(V)生育条件下のみならず硝酸生育条件下でも Sb(V)還元酵素活性を示したが、B-3 株及び E-1 株は Sb(V)生育条件下でのみ活性を示した。また、SVR 株は、菌体増殖が生じない休止菌体でも、Sb(V)還元能を維持することができた。これらの結果から、Sb(V)還元・Sb 回収プロセスへの適用には、SVR 株が有望であることが示された。

(2) *Geobacter* sp. SVR 株による Sb(V)還元・Sb₂O₃ 生成特性

SVR 株を用いて、Sb(V)還元試験を行った結果を図 1(a)に示した。溶液中の Sb(V)は速やかに減少し、2 日間ではほぼ全量が還元された。また、それに伴って白色沈殿の生成が見られた。培養 1 日目には少量の Sb(III)が検出されたが、時間の経過とともに減少し、7 日目にはほぼ消失した。Sb(V)に伴って酢酸の減少が確認された。菌体の増殖は、Sb(V)を電子受容体として加えた場合のみ確認された(図 1(b))。これらの結果から、SVR 株が Sb(V)呼吸細菌であることが確認されたといえる。

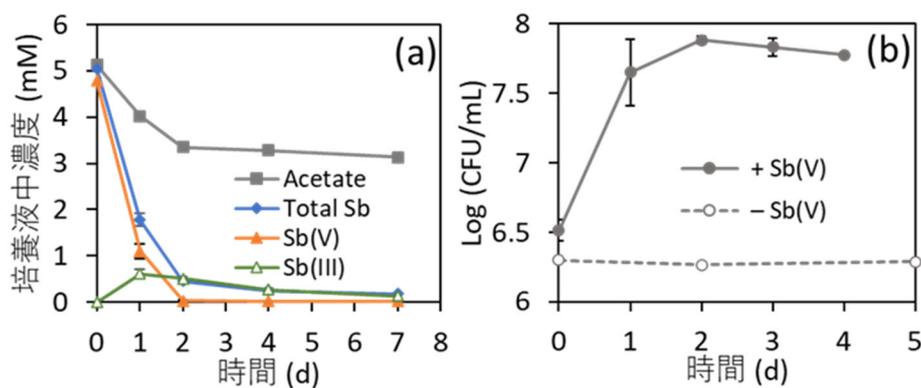


図 1. *Geobacter* sp. SVR 株による Sb(V)の還元(a)と菌体の増殖(b)

SVR 株の生成した白色沈殿を、SEM で観察した様子を図 2 に示した。培養 4 日目では、大半が微細な粒子であり、一部結晶化が始まっていた。10 日目・14 日目には、ほぼ全てが結晶化しており、蝶ネクタイ状の結晶が観察された。EDS 分析から、これらの粒子・結晶の主成分は、Sb と O であることが確認された。また、14 日目の沈殿物を回収し、XRD による結晶構造解析を行ったところ、斜方晶系の Sb₂O₃ 鉱物であるバレンチナイトとピークパターンが一致した。以上の結果から、SVR 株が溶存態 Sb(V)を還元し、Sb₂O₃ の結晶鉱物を生成することが確認された。

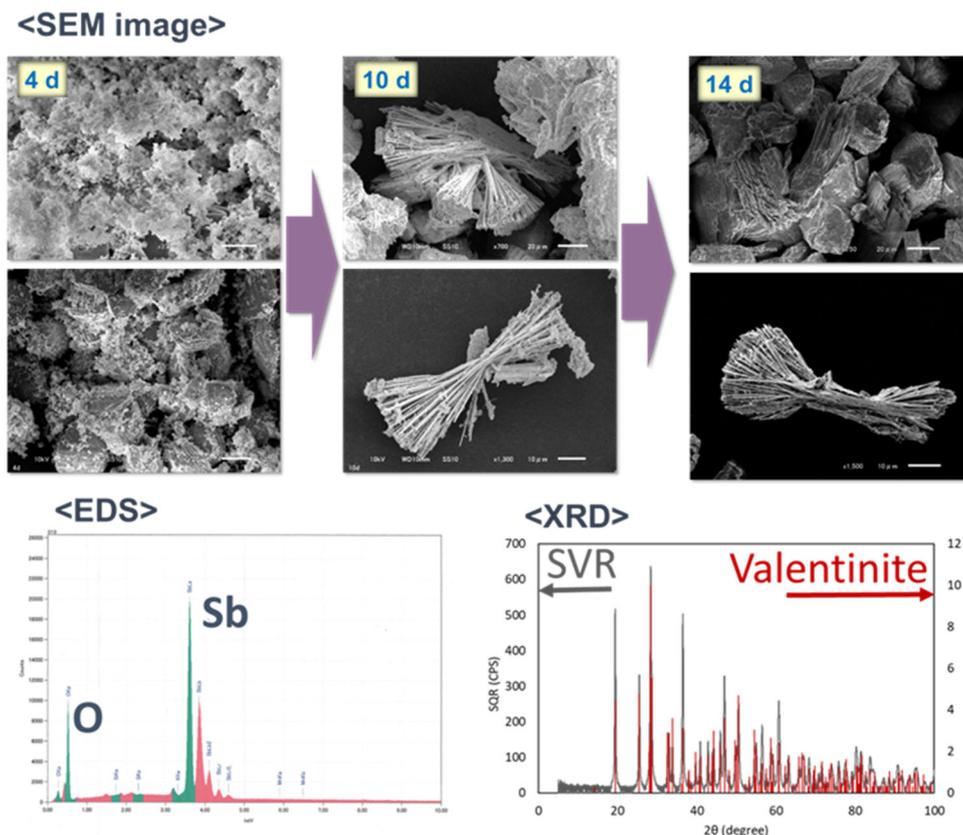


図 2. SVR 株が生成した白色沈殿の SEM 画像と結晶構造

(3) 結晶構造別 Sb_2O_3 の回収

これまでに報告されている 2 種の Sb(V) 呼吸細菌のうち、米国のグループが分離した *Desulfuribacillus stibiiarsenatis* MLFW-2 株では、 Sb(V) の還元によりバレンチナイトとセナルモンタイトの混合物生成が確認されている。一方、韓国のグループが分離した *Sinorhizobium* 属細菌は、 Sb(V) を Sb(III) に還元するものの、アモルファスの Sb_2O_3 様沈殿を部分的にしか生じない。これらに対して、SVR 株は、ほぼ完全に Sb を溶液から除去し、バレンチナイトのみを生成していた。

Sb_2O_3 を結晶構造別に回収する方法を検討するために、SVR 株の Resting cell を用いて模擬廃水からの回収実験を行った。結果を図 3 に示した。pH7 で実験を行った結果、増殖を伴う系と同様に、速やかな Sb(V) の還元が見られた。また、それに伴って溶液中からの Sb の除去と白色沈殿の生成が確認された。SEM-EDS、及び XRD の結果から、回収された結晶は全てが斜方晶系のバレンチナイトであること明らかとなった。これらの結果から、SVR 株は活発に増殖する条件下だけでなく、栄養が制限された条件下でもバレンチナイトを生成できることが示された。

pH8 で行った実験においても、pH7 と同様に Sb(V) の還元が見られ、溶存態 Sb の減少と白色沈殿の生成が確認された。一方で、SEM 画像の様相は pH7 とは異なり、立方晶様の結晶のみが観察された。EDS 分析から、結晶の主成分は Sb と O であることが確認された。また、XRD による結晶構造解析を行ったところ、立方晶系の Sb_2O_3 鉱物であるセナルモンタイトとピークパターンが一致した。

以上の結果から、 Sb 呼吸細菌を用いた模擬廃水からの Sb 除去とともに、結晶構造別に Sb_2O_3 鉱物を回収することに成功した。SVR 株は、 Sb 呼吸細菌の中でも優れた Sb(V) 還元能力を持つことから、廃水からの Sb 回収プロセスへの適用に有望であるといえる。

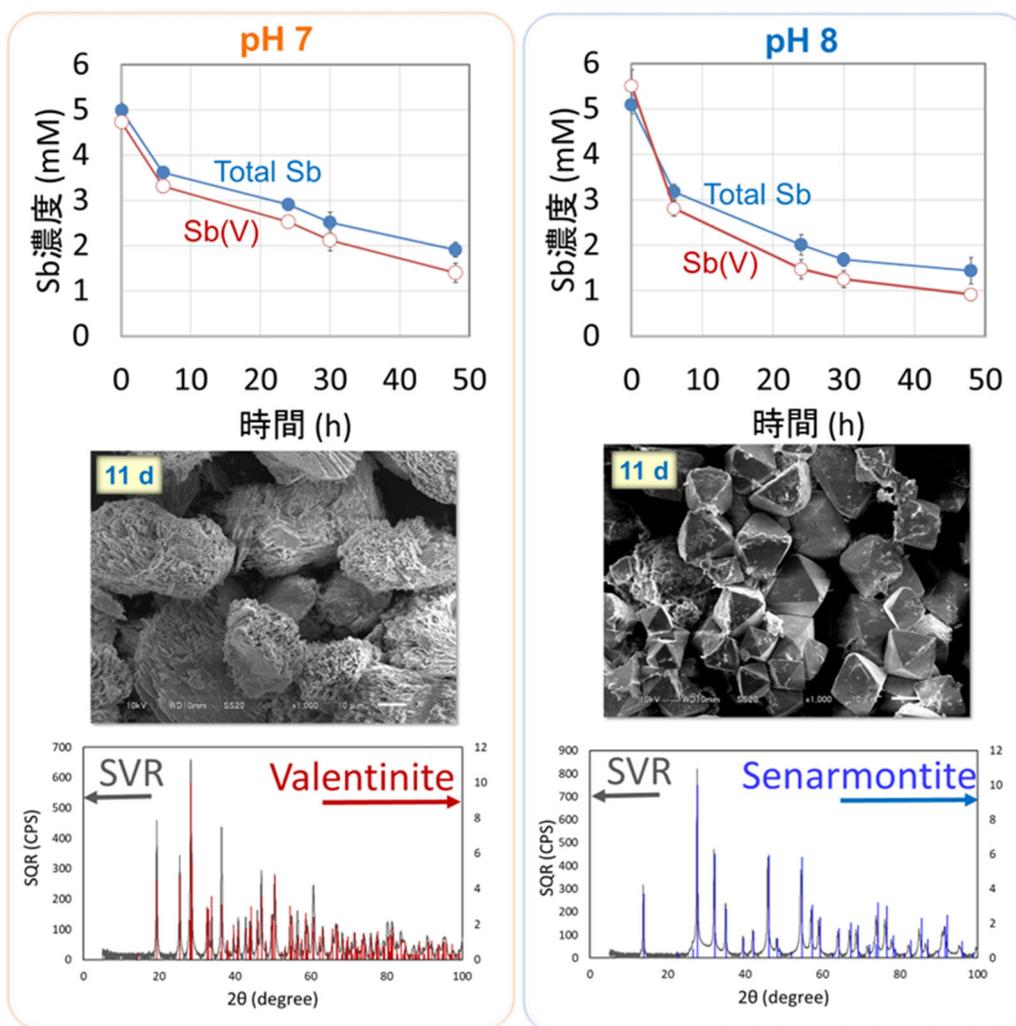


図 3. Resting cell を用いた模擬廃水からの Sb_2O_3 の回収

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamamura S., Iida C., Kobayashi Y., Watanabe M., Amachi S.	4. 巻 411
2. 論文標題 Production of two morphologically different antimony trioxides by a novel antimonate-reducing bacterium, <i>Geobacter</i> sp. SVR	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Hazardous Materials	6. 最初と最後の頁 125100
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jhazmat.2021.125100	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Warashina T., Yamamura S., Suzuki H., Amachi S.	4. 巻 10
2. 論文標題 Complete genome sequence of <i>Geobacter</i> sp. strain SVR, an antimonate-reducing bacterium isolated from antimony-rich mine soil	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00142-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.00142-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 山村茂樹、天知誠吾	4. 巻 48
2. 論文標題 アンチモン呼吸細菌の単離とその廃水処理への適用の可能性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 環境技術	6. 最初と最後の頁 306-309
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yamamura S., Kobayashi Y., Amachi S.
2. 発表標題 Production of crystalline antimony trioxides by a dissimilatory antimonate-reducing bacterium
3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference 2019 (WET2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamamura S., Kobayashi, Y. Amachi, S.
2. 発表標題 Recovery of antimony trioxides from liquid phase by microbial antimonate reduction
3. 学会等名 5th NIES International Forum (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神原遼也、山村茂樹、天知誠吾
2. 発表標題 Geobacter sp. SVR株における異化的アンチモン還元酵素の同定
3. 学会等名 日本微生物生態学会第34回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	天知 誠吾 (AMACHI Seigo) (80323393)	千葉大学・大学院園芸学研究科・教授 (12501)	
研究 分担者	小林 弥生 (KOBAYASHI Yayoi) (00391102)	国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・主幹研究員 (82101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------