

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 19 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26820394

研究課題名(和文) 超好酸性細菌を利用したレアメタル資源の新規バイオ回収技術の開発

研究課題名(英文) Biorecovery of valuable metals using extremely acidophilic microorganisms

研究代表者

沖部 奈緒子 (Okibe, Naoko)

九州大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30604821

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：都市鉱山浸出液からのレアメタルのバイオ回収を最終目標とした基礎研究を行った。パラジウム含有溶液からは、超好酸性鉄還元細菌を利用することで、Pd(II)を細胞表面にナノサイズのPd(0)粒子(Bio-Pd(0)ナノ粒子)として回収することに成功した。本ナノ粒子生成機構について考察し、微生物学的反応と化学的反応のバランス最適化が重要であることを見出した。Bio-Pd(0)ナノ粒子は、その微小サイズから、少量で高活性を示すことが期待できる。また、バナジウム(V)については、同じく超好酸性鉄還元細菌株を利用することで酸性pH領域でもV(V)がV(IV)に還元し、非晶質沈殿物としての回収が可能となった。

研究成果の概要(英文)：In order to eventually recover valuable metals from urban mine leachate, this study investigated the utility of extremely acidophilic Fe(III)-reducing bacteria mainly for Pd(II) reduction to produce Pd(0) nanoparticles, and also for V(V) reduction to recover V precipitates. Pd(0) nanoparticles were effectively produced by combination of biological Pd(0) nucleation step and chemical crystal growth step. Using active cells together with sodium formate as electron donor was critical to produce well-distributed, smaller-sized Pd(0) nanoparticles on cell surface. Soluble V(V) was also successfully recovered even under acidic pHs as V(IV)-precipitates mainly on the cell surface. A part of V was recovered intracellularly as nanoparticles.

研究分野：Biohydrometallurgy

キーワード：レアメタル 貴金属 都市鉱山 バイオ回収 ナノ粒子 超好酸性鉄還元細菌 パラジウム バナジウム

1. 研究開始当初の背景

資源ナショナリズムが台頭する中、金属資源を輸入に頼る日本にとって、産業を支えるレアメタルの安定供給は国家的な課題である。一方で、日本には多くの都市鉱山資源が蓄積されており、非鉄金属産業などから生成される種々の金属含有廃液も、資源として考えることができる。こうした未利用の二次原料を有効活用するための新しい技術開発は、資源を有しない技術立国、日本にとって、優先して取り組むべき課題であると言える。

レアメタルかつ貴金属であり、プラチナ族元素(PGE)に属するパラジウム(Pd)は、特に触媒として注目され産業的に広く利用されている。また、レアメタルの1つであるバナジウム(V)は製鋼添加剤や触媒として極めて重要である。これらの産出国は偏在しており、特にPdは供給が非常に限られている。PdやVの処理・再生に必要な従来の物理・化学的プロセスは、高コストで多量の化学薬品を使用し、二次汚染という大きな問題も抱える。このように、レアメタルの“クリーンな”回収法の開発には、これまで高い優先順位が与えられていない。そこで本研究では、強酸性環境より単離された超好酸性細菌、*Acidocella* PFBC 株および、*Acidiphilum* SJH 株が、重金属耐性を示し、なおかつ鉄還元能を有することから、これら菌株のレアメタル回収への潜在能力に着目した。

溶解した金属の不動化を促す生物学的メカニズムの一つ、「生物変換」には酸化・還元反応が含まれる。溶液中のPd(II)やV(V)は、還元することで溶解度が下がり、不動化が可能な元素であるため、微生物反応にてPd(II)をPd(0)へ、またV(V)をV(IV)/V(III)へ還元出来れば、これらレアメタルの「クリーンな」バイオ回収技術開発への応用が期待できる。

予備試験にて、これらの細菌株がV(V)還元能を示すことは示唆されており、レアメタルバイオ回収への有効性が期待できる。また、Pdのバイオ回収を目指すもう1つの重要な意義は、biogenic Pd(0) (bio-Pd(0))の性質にある。Pd触媒は、バルク材料よりも、より活性が高く使用量の低減を可能とするナノ粒子(NPs)としての使用に切り替わる傾向がある。従来のNPs製造法は、一連の高価かつ毒性の薬剤使用を必要とする。これに対して、生物学的還元反応を応用した場合、従来法の代替法として、1-10 nmのナノ粒子の生成が可能となる。

そこで、本研究では、新たな生物学的湿式製錬法として、強酸性の金属浸出液(aqua regia)や廃液中のPd(II)およびV(V)を、超好酸性鉄還元細菌を利用してバイオ回収するための基盤技術開発を目指した。

2. 研究の目的

日本に多く蓄積されている都市鉱山や産業廃液から、レアメタルを再生させるため

に、経済的かつ環境負荷の低い新規レアメタルバイオ回収プロセスを開発することを目的とした。研究対象とするのは、至適生育pHを2.0付近とする超好酸性鉄還元細菌である。強酸性の希薄金属含有溶液における微生物学的な金属還元反応に基づくレアメタルのバイオ回収へ向けて、これらの極限環境微生物が有する生理学的特徴の優位性が見出せるものと期待した。一方、これらの潜在能力への期待とは対照的に、超好酸性鉄還元細菌について、有価金属や毒性金属の還元・回収に関する報告はこれまでに無く、いまだ未開拓の研究分野であると言える。したがって、本研究により、技術的貢献のみならず、学術的な観点からの新規知見の発展へ貢献することを目指した。

3. 研究の方法

超好酸性鉄還元細菌 *Acidocella* PFBC 株および *Acidiphilum* SJH 株について、Pd(II)・V(V)に対する耐性試験、およびPd(II)・V(V)還元能力についての系統的な条件検討(溶存酸素濃度、pH、電子供与体の有無、他の電子受容体の有無など)を行なった。これによって、還元反応の生理学的役割の検証と共に、還元条件の特定・最適化を行なった。同時に生成した不動化物の分析および生成メカニズムの原子レベルでの解析を行なった。さらに生成されたbio-Pd(0)の触媒活性を評価した。

4. 研究成果

(1) パラジウム (Pd)

PFBC 株及び SJH 株の Pd(II)還元実験(電子供与体:ギ酸 (Formate) 5mM)において、強酸性溶液中から 100 mg/L の Pd(II)が完全に還元され、Bio-Pd(0)を生成した。その生成過程で、微生物学的(酵素的)Pd(II)還元による Bio-Pd(0)核生成・Formate の化学的 Pd(II)還元による核成長の関与が示唆され、酵素的還元及び化学的還元との2つの還元バランスが、細胞内外に分散した Bio-Pd(0)ナノ粒子の生成に重要であることが考察された。また、Hydrogenase 酵素反応阻害剤として Cu(II)を添加した系では、Pd(II)還元において酵素反応が関与する核生成段階が阻害され、PFBC 株において Bio-Pd(0)粒子密度の減少及び粒子径の肥大化、SJH 株では細胞内の Bio-Pd(0)の消失が確認された。酵素活性が失活した死細胞(Heat-killed cell)を用いた際の Pd(II)還元挙動及び細胞内外 Bio-Pd(0)局在から、酵素反応が関与していないにもかかわらず、細胞内に分散した Bio-Pd(0)の生成を確認した。これは、オートクレーブ処理により細胞膜の選択的透過性が消失したため、Formate 及び Pd(II)が細胞内に拡散したにも関わらず、化学的 Pd(II)還元の際に、細胞内有機物構造が Bio-Pd(0)凝集を抑制したためだと考えられる。さらに触媒能評価試験を Cr(VI)還元反応を通して行った。両株由来の Bio-Pd(0)で触媒

的に Cr(VI)還元が確認されたが、その還元効率は Bio-Pd(0)局在、粒子径及び粒子密度に関係が見られた。SJH 株由来の Bio-Pd(0)(生細胞 Cu(II)、生細胞+Cu(II)、死細胞 Cu(II))では、触媒的還元効率に差はあまり見られなかったが、PFBC 株由来の Bio-Pd(0) (生細胞 Cu(II)、生細胞+Cu(II)、死細胞 Cu(II))では、粒子径及び細胞内分布の差異が、Cr(VI)還元の触媒効率に差を生じた。酵素的核生成段階を通じて生成した Bio-Pd(0)は、粒子径も小さく、粒子密度も大きいため、高い触媒能を示したが、核生成段階が欠落し生成した Bio-Pd(0)では、粒子径の肥大化により触媒能の低下が示された。

以上より、超好酸性鉄還元細菌を利用することで、溶液中の Pd(II)を Bio-Pd(0)ナノ粒子として回収することに成功した。本ナノ粒子生成機構について考察し、微生物学的反応と化学的反応のバランス最適化が重要であることを見出した。Bio-Pd(0)ナノ粒子のサイズ、生成場所、細胞当りの粒子数を含む因子の調整が可能であること、それによって触媒活性を最適化できることを示した。

(2) バナジウム (V)

SJH 株は V(V) 4 ppm にて生育が阻害された一方、PFBC は 80 ppm にて耐性を示した。そこで、以降の実験は PFBC に焦点をあてた。微好気・嫌気何れの条件下でも、V(V)は還元したものの、安定した沈殿形成に至ったのは嫌気条件であった。嫌気条件下、有菌かつ fructose 添加の系において、実験開始後、培養液が黄色から青色に変化すると同時に、溶液中に V(IV)が検出された。しかし V(IV)濃度は間もなく減少を始め、同時に培養液中に灰褐色の沈殿物 ($\text{VO}(\text{OH})_2$) が形成した。溶液中の全 V 濃度は減少を続け、Day14 にて 70% 以上の V が不動化した。なお、Cu(II)の存在は、V(V)還元を阻害した。回収した沈殿物は、XRD より非晶質であり、SEM・TEM 観察より沈殿物は細胞表面を覆う形で認められた。加えて、細胞内にナノサイズの粒子として存在していることも確認できた。実験後の細胞ペレットを洗浄し、XPS および XANES にて解析したところ、XPS V2p 軌道スペクトルから V(IV)・V(V) 両ピークが検出され、XANES では V K-edge の pre-edge ピーク位置および吸収端から V(IV)、pre-edge ピーク強度から V(V) の存在が示された。以上より、V(V)還元は、fructose を電子受容体とした PFBC 株による代謝反応として進んでおり、その酵素反応は Cu(II)により阻害されることが示唆された。不動化の機構としては、生成された V(IV)の速やかな沈殿が支配的であり、僅かに還元反応を介さない V(V)の単純な細胞表面への吸着も認められた。

PFBC 株が、酸性 V(V)含有廃水からの V(V)バイオ回収技術に応用できる可能性が見出された。好酸性鉄還元細菌を用いた V(V)還元・不動化に関する報告は、本研究が初め

てである。

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)

〔雑誌論文〕(計 1 件) [IF 査読付き国際誌]
N. Okibe, M. Maki, D. Nakayama, K. Sasaki “Microbial recovery of vanadium by the acidophilic bacterium, *Acidocella aromatica* PFBC” *Biotechnology Letters* (accepted on 11 May, 2016)

〔学会発表〕(計 7 件)

中山 大輔, 笹木 圭子, 平島 剛, 沖部 奈緒子 “超好酸性鉄還元細菌を利用したバイオパラジウム(Bio-Pd)ナノ粒子の生成”資源・素材学会, 2014.09.15. 熊本大学

D. Nakayama, T. Hirajima, K. Sasaki, N. Okibe “Formation of Bio-Pd(0) nanoparticles using Fe(III)-reducing, extremely acidophilic bacteria” International Symposium on Earth Science and Technology 2014, 2014.12.05. 九州大学

T. Matsumoto, T. Hirajima, K. Sasaki, N. Okibe “Microbial synthesis of platinum nanoparticles using extremely acidophilic iron-reducing bacteria.” International Symposium on Earth Science and Technology 2014, 2014.12.05. 九州大学

中山 大輔, 笹木 圭子, 平島 剛, 沖部 奈緒子 “超好酸性鉄還元細菌を利用した Pd ナノ粒子生成における微生物学的/化学的反応の関与”資源・素材学会, 2015.03.27. 千葉工業大学

N. Okibe “Biohydrometallurgy for mineral processing and environmental remediation: State of the art and the development” sntki2015, 2015.10.12. Jogjakarta, Indonesia

D. Nakayama, T. Hirajima, K. Sasaki, N. Okibe, Investigating factors affecting the size and distribution of Bio-Pd(0) nanoparticles, International Symposium on Earth Science and Technology 2015, 2015.12.04. 九州大学

N. Okibe Biohydrometallurgy for mineral processing and environmental remediation: State of the art and the development, International Symposium on Environment and Resource Recycling Technology 2016, 2016.03.04. 宮崎大学

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕該当なし。

〔その他〕

<http://process.mine.kyushu-u.ac.jp>

6．研究組織

(1)研究代表者

沖部 奈緒子 (OKIBE, Naoko)

九州大学大学院 工学研究院

地球資源システム工学部門・准教授

研究者番号：30604821