

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25550068

研究課題名(和文) 微生物によって形成されるテルル化ビスマスナノ粒子を用いた高効率熱電素子製造

研究課題名(英文) Development of efficient thermoelectric module using bismuth telluride nanoparticles synthesized by microorganisms

研究代表者

池 道彦 (Ike, Michihiko)

大阪大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：40222856

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)：熱エネルギーと電気エネルギーを相互に変換することができる熱電素子は、新たな創エネルギー技術として期待されている。本研究は、熱電材料として用いられるカルコゲン化ビスマスナノ粒子の細菌を用いた合成を試みた。ビスマス(III)と亜セレン酸を含む培養液中で、5種の細菌はいずれも細胞内外に直径10-100 nmのBi₂Se₃ナノ粒子を生成した。また、ビスマス(III)、亜セレン酸、亜テルル酸を含む培養液中で、*O. anthropi* TI-3は(S+Se+Te)/Bi比が1.88の粒子を生成した。本研究により高温条件を用いない環境低負荷型の新たな熱電材料合成法の可能性が提示できたものと言える。

研究成果の概要(英文)：Thermoelectric module is a promising energy-production technology which interconvert between thermal and electric energies. Present study tried to synthesize nanoparticles of a thermoelectric material, bismuth chalcogenide, using bacteria. In liquid media containing bismuth (III) and selenite, five bacterial strains synthesized Bi₂Se₃ nanoparticles of diameter 10-100 nm both inside and outside the cells. In liquid media containing bismuth (III), selenite, and telluride, *O. anthropi* TI-3 synthesized nanoparticles with elemental ratio ((S+Se+Te)/Bi = 1.88). This study proposed an environmentally friendly option to synthesize thermoelectric material without using high temperature condition.

研究分野：環境工学

キーワード：熱電材料 カルコゲン化ビスマス セレン テルル バイオプロダクション

1. 研究開始当初の背景

熱電素子は、熱エネルギーと電気エネルギーを相互に変換することができる半導体電子部品である¹⁾。電気エネルギーが熱エネルギーに変換される現象はペルチェ効果と呼ばれ、小型の冷蔵庫や精密な温度制御が必要な電子機器に利用されている。一方、熱エネルギーが電気エネルギーへと変換される現象はゼーベック効果と呼ばれ、精密な温度測定が可能な熱電対として広く利用されている他、未利用排熱を活用した発電は新たな創エネルギー技術として期待されており、この実現に向けて発電効率の向上を目指した研究が盛んに行われている。

熱電発電の普及に向けた課題として、ライフサイクルコストおよびライフサイクルCO₂が必ずしも負にならないことが指摘されている²⁾。これは、現状の性能では熱電発電効率が高くないことに加えて、熱電材料の製造には原料の溶融、材料の微粉碎、焼結に多大な熱・電気エネルギーを消費することに起因しており、低コストかつ省エネルギー的な熱電材料の製造法が求められていると言える。

近年、微生物の代謝作用を利用して化合物半導体材料を合成する試みが盛んに行われている。これまでにCdS、CdSe、CdTe、PbS、PbSeといった材料の様々な細菌や糸状菌による合成が報告されており、そのいずれもが粒形1~200 nmのナノ粒子を形成する³⁾。微生物反応は、常温常圧で行われるため概して省エネルギー的であること、また有害な溶媒を使用しないことなどが特徴であり、従来の合成法に代わる環境低負荷型の半導体製造プロセスとして注目されている。一方、熱電材料として用いられる材料の微生物合成についてはこれまでに報告がなく、さらなる研究が求められている。

2. 研究の目的

本課題では、これまでに報告例のない、微生物による熱電材料の合成に着目した。常温に近い温度で高い発電効率を発揮することが報告されている熱電材料のカルコゲン化ビスマス(テルル化ビスマス(Bi₂Te₃)、セレン化ビスマス(Bi₂Se₃)、およびBi-Se-Te三元系材料(Bi₂Se_xTe_(3-x))ナノ粒子を、細菌を用いて合成することを目的とした。

3. 研究の方法

水溶性の亜テルル酸(Te(IV))および亜セレン酸(Se(IV))を微生物によって還元し、テルル化物イオン(Te(-II))、セレン化物イオン(Se(-II))を生成し、ビスマス(III)イオン(Bi(III))と結合させることによってBi₂Te₃、Bi₂Se₃を合成することを試みた。この概念図を図1に示す。

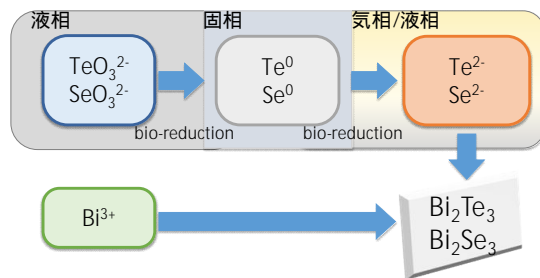


図1 細菌による Bi₂Te₃ および Bi₂Se₃ 合成の概念図。

(1) 供試微生物

セレン代謝細菌 *Pseudomonas stutzeri* NT-I、*Pseudomonas aeruginosa* RB、及びテルル代謝細菌 *Stenotrophomonas maltophilia* TI-1、*Ochrobactrum anthropi* TI-2、*O. anthropi* TI-3 の5株を用いた。

(2) カルコゲン化ビスマスナノ粒子の合成

前々培養および前培養を行った各供試微生物を様々な濃度のSe(IV)、Te(IV)およびニトリロ酢酸でキレート化したBi(III)を含むTSB培地20 mLに懸濁し、それぞれ振盪培養器(28、120 rpm)を用いて好氣的に培養した。

(3) 分析方法

培養液から500 μLをマイクロチューブに採取し、500 μLの超純水を添加した後、遠心分離(21,900 ×g, 10 min, 4°C)後、液相部950 μLを孔径0.45 μmのフィルター(DISMIC, Disposable syringe filter unit: Cellulose acetate, ADVANTEC)にてろ過して得られたろ液を超純水にて希釈し、亜セレン酸および液相中のSe、Bi濃度の分析に供した。分析に供するまで、得られたろ液は4で保存した。また、マイクロチューブに残った固相部に950 μLの超純水を加えて再懸濁させ、遠心分離(21,900 ×g, 30 min, 4)を再度行った。液相部950 μLを捨て、これを固相SeおよびBi濃度の分析に供した。

液相中のSe(IV)濃度はイオンクロマトグラフィー(HIC-20A SUPERシステム、島津製作所)を使用して測定した。分析条件は以下のとおりである；検出器：CDD-10Asp、カラム：Dionex Ionpac AS4A-SC、ガードカラム：Dionex Ionpac AG4A-SC、溶離液：Na₂CO₃ (3.0 mM)、温度：45°C、流量：1.0 mL/min。

液相SeおよびBi濃度は高周波プラズマ発光分光分析装置(ICP-AES; ICPS-8100, 島津製作所)を用いて測定した。

固相BiおよびSe濃度は、固相試料に950 μLの濃硝酸を添加した後、100のウォーターバスにて10分間煮沸することで酸消化を行い、得られた溶液を超純水にて希釈してICP-AESにより分析を行った。

また、半導体粒子の観察・分析は以下の手

順で行った。培養液の固相を遠心分離 (21,900 ×g, 30 min, 4) により回収し、超純水を用いて 3 回洗浄した後、1000 μL の超純水に再懸濁させ、その 10 μL を銅メッシュグリッド (エラスチックカーボン ELS-C10, 応研商事) 上に滴下し、自然乾燥により固着させた。試料を透過型電子顕微鏡 (TEM; JEM-2100F, 日本電子)、ならびにエネルギー分散型 X 線分析装置 (EDS; EX-24063JGT, 日本電子) を用い、加速電圧 200 kV にて観察および分析を行った。

4. 研究成果

(1) セレン代謝細菌およびテルル代謝細菌による Bi_2Te_3 、 Bi_2Se_3 の合成の試み

5 種の細菌 *P. stutzeri* NT-1、*P. aeruginosa* RB、*S. maltophilia* TI-1、*O. anthropi* TI-2、*O. anthropi* TI-3 を用いて Bi_2Te_3 および Bi_2Se_3 の合成を試みた。培養液中の液相 Te、Se、Bi 濃度の経時変化を図 2 に示す。

Bi_2Te_3 合成実験 (図 2 (a)-(e)) において、すべての実験系で培養 48 時間以内に液相 Te はほぼ全量が除去された一方で、液相 Bi は 120 時間以内では一部だけが除去された。

一方、 Bi_2Se_3 合成実験 (図 2 (f)-(j)) において、すべての実験系で培養 48 時間以内に液相 Se、Bi はほぼ全量が同じような速度で除去された。この時、培養液は元素態セレン (Se(0)) を示す赤色ではなく、 Bi_2Se_3 の生成を示唆する黒色を呈した。このとき、培養 48-196 時間で液相からの Se、Bi 除去量の比率は Bi_2Se_3 の原子数比である Se/Bi = 1.5 に近似していたことから、各種細菌は Bi_2Se_3 を生成していた可能性が示唆された。

また、 Bi_2Se_3 合成実験 (図 2 (f)-(j)) において、*P. stutzeri* NT-1 以外の細菌株では、培養 196-506 時間に液相 Se が 0.2 mM、液相 Bi が 0.5-1.2 mM に上昇する現象が共通して見られた。このことから *P. stutzeri* NT-1 以外の細菌株では、一度固相に移動した Se、Bi は再溶解することが示唆された。特に Se と比べて Bi の再溶解量が多いことから、一度生成した Bi_2Se_3 の一部が徐々に酸化され、Se(0)を生じた結果、再溶解が起こった可能性が考えられる。

Bi_2Te_3 合成実験 (図 2 (a)-(e)) の終了時に得られた粒子を各種細菌の細胞および生成された粒子を TEM 用いて観察したところ、どの菌株においても同様全長約 200-500 nm の三つ矢型の結晶および粒径約 50 nm の球状粒子が生成されていた (data not shown)。これら粒子について、EDS を用いて元素分析を行ったところ (data not shown) 球状粒子には、一部 Bi と Te の両方を含むものもあったものの、多くは Bi が偏在していた。また三つ矢型の結晶では、Te が偏在していた。以上より、 Bi_2Te_3 は生成されず、Bi と Se の単体が生成したものと考えられた。

Bi_2Te_3 合成実験 (図 2 (f)-(j)) において、液相 Se、Bi がほぼ全量除去された培養 48 時間

後に得られた各種細菌の細胞および生成された粒子の TEM 画像とそれに付随する EDS スペクトル、元素分析結果を図 3 に示す。*P. stutzeri* NT-1、*P. aeruginosa* RB、*O. anthropi* TI-2、*O. anthropi* TI-3 は、細胞表面および細胞外に直径 50-100 nm の粒子を形成し、*S. maltophilia* TI-1 は細胞内に数 nm の粒子およびロッドが凝集した直径 10-50 nm の粒子を形成した。各種細菌によって生成した粒子は、共通して Se、Bi の原子数比が Se/Bi = 1.5 に近似する値 (Se/Bi = 1.45-1.54) を示したことから、 Bi_2Se_3 である可能性が高いと考えられる。また、得られた粒子は、それぞれ 5%未満の硫黄 (S) を含んでおり、また *S. maltophilia* TI-1 によって生成された粒子には、5%未満の NaCl および 1%未満のリン (P) が含まれていた。

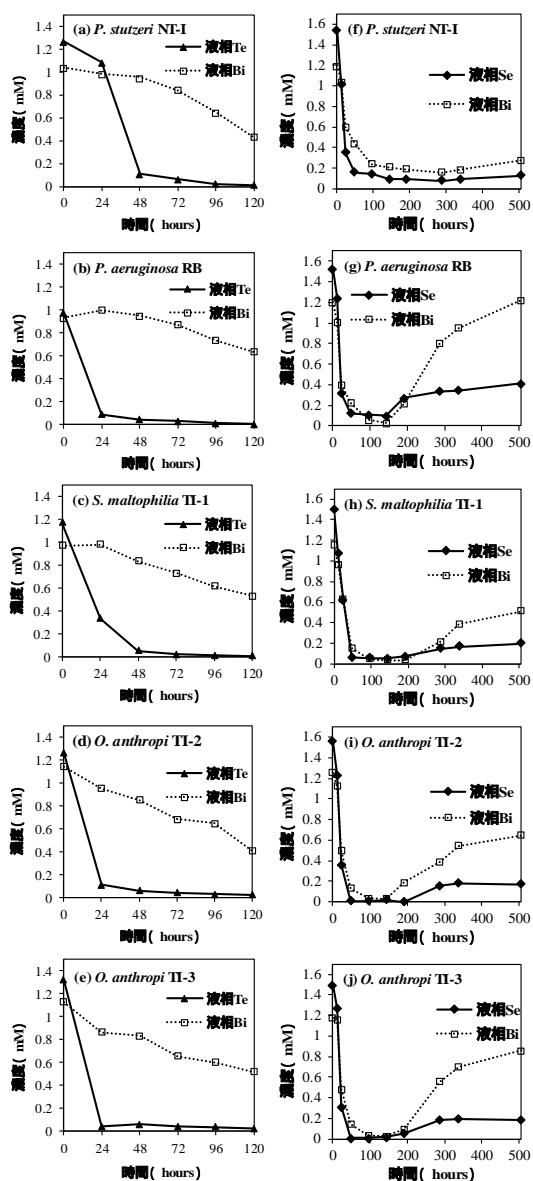


図 2 細菌による Bi_2Te_3 および Bi_2Se_3 の合成。(a)-(e) : 培養液中の液相 Te, Bi 濃度の経時変化、(f)-(j) : 培養液中の液相 Se, Bi 濃度の経時変化。

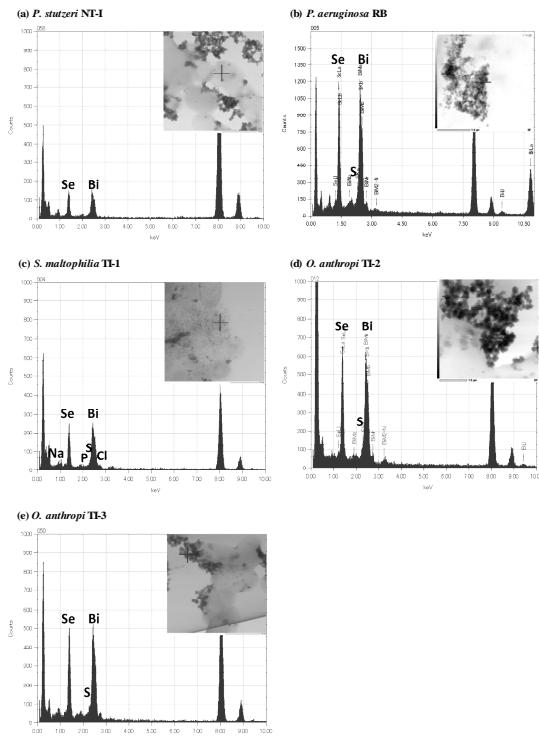


図3 Bi₂Se₃ 合成実験における培養 48 時間後に得られた粒子の TEM 画像、EDS スペクトル。

(2) セレン代謝細菌およびテルル代謝細菌による Bi-Se-Te 三元系粒子の合成

P. stutzeri NT-I、*P. aeruginosa* RB、および *O. anthropi* TI-3 を用いて Bi-Se-Te 三元系粒子の合成を試みた。液相 Se、Te、Bi 濃度の経時変化を図 4 に示す。全ての培養系において Se よりも Te が優先的に液相から除去された。*O. anthropi* TI-3 と *P. stutzeri* NT-I は培養開始時より Se、Te、Bi の各元素が液相から除去され始めたが、*P. aeruginosa* RB では先に Te が全量液相から除去された後に Se と Bi が除去される傾向を示した。いずれの系においても化学量論的に Bi の除去が少なくなる傾向が示された。また、最終的に Se、Te はほぼ全量が除去されたのに対し、Bi は全ての培養系で全量を除去することはできなかった。全ての系において培養液は培養 24 時間後に黒色を呈し、培養 96 時間後まで培養液の色は変わらなかった。

各実験系の培養 96 時間後に得られた粒子を観察したところ *P. stutzeri* NT-I 培養系と *O. anthropi* TI-3 培養系ではいずれも細胞外に直径 50–100 nm の粒子が生成され、*P. aeruginosa* RB 培養系は、細胞内に 10–50 nm の粒子、および細胞外に長さ 300–500 nm のロッドを生成した。生成した粒子の元素組成を表 1 に示す。いずれの実験系においても、S、Se、Te、Bi の 4 元素を含む粒子が形成された。*P. stutzeri* NT-I 及び *P. aeruginosa* RB が形成した粒子の (S+Se+Te)/Bi 比はそれぞれ 4.16、7.76 であり、1.5 から大きく離れたことから、元素態 Se または元素態 Te を多く含んでいることが推測された。一方、*O.*

anthropi TI-3 によって形成された粒子の (S+Se+Te)/Bi 比は 1.88 であり、1.5 より若干高いものの、Bi-S-Se-Te 四元系材料が形成されている可能性が示唆された。ここで、硫黄は培地成分に含まれる硫酸に由来するものであると考えられ、Bi-Se-Te 三元系粒子の合成のためには、培地成分中の硫黄濃度の低減を検討することが必要であると考えられた。

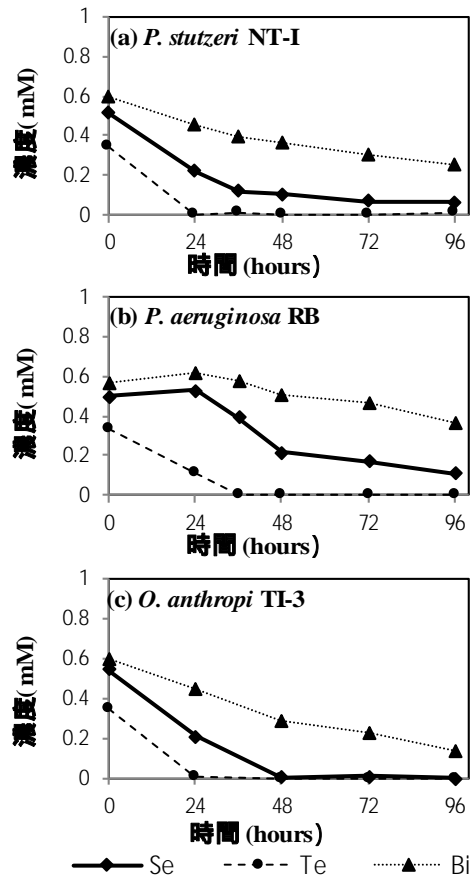


図4 *P. stutzeri* NT-I、*P. aeruginosa* RB、及び *O. anthropi* TI-3 による Bi-Se-Te 三元系粒子の合成。

表1 *P. stutzeri* NT-I、*P. aeruginosa* RB、及び *O. anthropi* TI-3 によって生成された粒子の元素組成

	composition (%)				(S+Se+Te)/Bi ratio
	S	Se	Te	Bi	
NT-I	5.7	39.4	35.5	19.4	4.16
RB	6.4	32.5	49.7	11.4	7.76
TI-3	10.1	42.9	12.2	34.8	1.88

(3)まとめと展望

本研究では、これまで報告がなかった Bi₂Se₃ ナノ粒子の微生物合成が達成された。半導体熱電材料をナノ構造化することにより、熱電発電効率を飛躍的に向上させられることが報告されており⁴⁾、微生物による熱電材料合成は、省エネルギー的であるだけでなく、高性能熱電素子の実現にも寄与する可能性があることが示された。一方、熱電材料として汎用されているテルルを含む材料の微生物合成については、*O. anthropi* TI-3 を用いた場合に部分的に達成したものの、より高品質な材料を高効率に合成するためにはさらなる検討が必要であると考えられた。微生物によるテルル代謝はいまだ不明な点が多いため、これを解明し適切に制御することが必要であると考えられる。

<引用文献>

- 1) Rowe DM, ed., CRC Handbook on Thermoelectrics (CRC Press, Boca Raton, FL, 2006).
- 2) Kishita Y, Ohishi Y, Uwasu M, Kuroda M, Takeda H, Hara K. (2016) Evaluating the life cycle CO₂ emissions and costs of thermoelectric generators for passenger automobiles: a scenario analysis. J Clean Prod, 126, 607-619.
- 3) Jacob JM, Lens PN, Balakrishnan RM. (2016) Microbial synthesis of chalcogenide semiconductor nanoparticles: a review. Microb Biotechnol, 9, 11-21.
- 4) Rao AM, Ji X, and Tritt TM. (2006) Properties of nanostructured one-dimensional and composite thermoelectric materials. MRS Bull, 31, 218-223.

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)

Hiroyuki Ayano, Masashi Kuroda, Satoshi Soda, and Michihiko Ike: Draft genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* strain RB, a bacterium capable of synthesizing cadmium selenide nanoparticles. Genome Announcements, 2 巻, 2014, e00368-14

[学会発表](計11件)

Hiroyuki Ayano, Masaki Miyake, Kanako Terasawa, Masashi Kuroda, Satoshi Soda, Toshifumi Sakaguchi, and Michihiko Ike: Enrichment and isolation of a CdSe-synthesizing bacterium from a soil sample. The 6th

Advanced Engineering Technology for Environment and Energy –Environment, Energy and Sustainable Development. 2013年8月5日、大阪大学銀杏会館(大阪府吹田市)

綾野裕之、秋山直之、三宅将貴、黒田真史、惣田訓、池道彦: *Pseudomonas aeruginosa* RB-R 株によるセレン化カドミウム合成特性. 第65回日本生物工学会大会講演要旨集、2013年9月18日、広島国際会議場(広島県広島市)

Hiroyuki Ayano, Masaki Miyake, Satoshi Soda, Toshifumi Sakaguchi, and Michihiko Ike: Enrichment and isolation of bacteria to recover soluble selenium and cadmium as CdSe nanoparticles from water phase. Metals in Water –Health Protection and Sustainable through Technical Innovation, 2013. 2013年11月8日、上海(中華人民共和国)

Hiroyuki Ayano, Masashi Kuroda, Satoshi Soda, and Michihiko Ike: Effects of temperature, pH, and salinity on CdSe synthesis by *Pseudomonas aeruginosa* strain RB. The 7th Advanced Engineering Technology for Environment and Energy –Environment, Energy and Sustainable Development. 2014年7月27~29日、釜山(大韓民国)

綾野裕之、黒田真史、惣田訓、池道彦: *Pseudomonas aeruginosa* RB によるセレン化カドミウム合成に及ぼす培養条件の影響. 第66回日本生物工学会大会、2014年9月9~11日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

須田奏志、綾野裕之、大石佑治、黒田真史、惣田訓、池道彦: 亜セレン酸還元細菌によるセレン化ビスマス合成法の開発. 日本水処理生物学会第51回大会、2014年11月12~14日、JA山梨(山梨県甲府市)
Masashi Kuroda, Yasunori Higuchi, Masaya Yoshioka, Satoshi Soda, and Michihiko Ike: Effects of nutrient and aerating conditions on selenium metabolisms by *Pseudomonas stutzeri* NT-I. IWA 9th International Symposium on Waste Management Problems in Agro-industries, 2014年11月24~26日、ザクラウンパレス新阪急高知(高知県高知市)

Michihiko Ike: Microbial synthesis of selenium-based nanoparticles: and example of eco-harmonizing production of functional nanoparticles. IWA Nano & Water Regional Conference 2015, 2015年5月20~23日、大連(中華人民共和国)(招待講演)

黒田真史、須田奏志、綾野裕之、大石佑治、

惣田訓、池道彦：セレン代謝細菌による熱電材料 Bi_2Se_3 の合成. 環境バイオテクノロジー学会 2015 年度大会、2015 年 6 月 29 ~ 30 日、東京大学弥生講堂（東京都文京区）

Soshi Suda, Hiroyuki Ayano, Masashi Kuroda, Satoshi Soda, and Michihiko Ike: Synthesis of bismuth selenide by selenite-reducing bacteria.

International Anammox Symposium (IANAS2015), 2015 年 8 月 8 ~ 9 日、大連（中華人民共和国）

黒田真史、須田奏志、綾野裕之、大石佑治、惣田訓、池道彦：セレン代謝細菌による熱電材料 Bi_2Se_3 の合成. 第 67 回日本生物工学会大会、2015 年 10 月 26 ~ 28 日、城山観光ホテル（鹿児島県鹿児島市）

6 . 研究組織

(1)研究代表者

池 道彦 (IKE, Michihiko)
大阪大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：4 0 2 2 2 8 5 6

(2)研究分担者

惣田 訓 (SODA, Satoshi)
大阪大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：3 0 3 2 2 1 7 6

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：2 0 5 1 1 7 8 6

大石 佑治 (OHISHI, Yuji)
大阪大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：2 0 5 7 1 5 5 8