

原油湧出地から分離された微生物による蛍光性半導体微粒子の合成

**Formation of semiconductor nano-particles by bacteria isolated from natural oil-producing environments**

阪口利文<sup>1</sup>, 清水亮佑<sup>1</sup>

Toshifumi Sakaguchi<sup>1</sup>, Ryosuke Shimizu<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 県立広島大学・環境科学科)

e-mail: sakaguchi@pu-hiroshima.ac.jp

**SUMMARY**

So far, many chemical methods for neutralizing or cohesive precipitation have been used to remove poisonous substances such as heavy metals and metalloid elements from mining, manufacturing and power generation drains. However, these treating methods have to administer a large amount of reagents to drain. In addition, it is necessary to remove the administered chemical treatment reagents. Although heavy metals and metalloid elements can be essential to industrial material production as rare earth element, the effective recovery method of these released or contaminated elements have not been developed. Further research should explore the biological function which can apply to develop the recovery and recycling technology. Thus, we have attempted and performed the simultaneous removal of Te anion (potassium tellurite) and Cd cation (cadmium chloride) due to conversion to cadmium telluride (CdTe) with anaerobic reactions of microbial consortia and its isolates that were obtained from natural sediment and oil-producing ponds..

Many sludge and sediment samples were obtained from various terrestrial, freshwater and marine environments, and oil-producing places. These samples were inoculated to the anaerobic isolation medium. Microorganisms were enriched and incubated in the isolation medium contained at 1 mM of potassium tellurite and cadmium chloride respectively under anaerobic conditions at 25 °C. Black precipitates that considered to be corresponding to CdTe, were formed in the enrichment. After ultra sonic disruption of the cells from enrichment, the collected precipitates were analyzed with energy dispersive X-ray microanalysis (EDX) and high resolution transmission electron microscopic observation (HRTEM). The analysis showed the microbial depositions were nano-sized particles that were composed of Cd and Te with approximately 10 nm in diameter. Furthermore, we have obtained two pure strains of isolates from enrichments, which can sustain in the presence of 1 mM of potassium tellurite and cadmium chloride respectively. HRTEM, EDX and electron diffraction analyses on the produced particles indicated that microbial formation of cadmium telluride with sphalerite (zincblende) structure has been achieved.

近年、ナノテクノロジー分野の発展に伴い生体分子タグや特定分子の標識材料として量子蛍光結晶であるセレン化カドミウム (CdSe) やセレン化亜鉛 (ZnSe) などが注目されている。これらの微粒子は quantum dot (量子ドット) 効果によって、結晶粒径が 10 nm 以下の場合、その粒径が揃っているとバンドギャップに応じて 1 nm の粒径単位で青から赤に至る発光制御が可能なナノ発光結晶となりうる

<sup>1)</sup>。しかしながら、マイルドな条件で効率よくこれらの蛍光微粒子を合成できる技術が少ないのははじめ、これらのナノ発光結晶を合成できる手法については、欧米の既往特許があるため、この特許技術をバイパスできるような手法が望まれていた。また、現在、工場や発電施設の廃棄物に含まれるレアエレメント、とりわけセレン（テルル）、カドミウムに代表される有害金属（様）イオンの回収が問題となっている。

我々は、このような有害元素種の回収について、微生物の酸化還元反応を利用したセレンオキシアニオンの還元と重金属カチオンの共存による化合物結晶への変換、回収の可能性を検討してきた。これまでに重金属（カドミウム）に耐性がある微生物株のスクリーニングを実施した。セレンオキシアニオンと重金属イオンを含む培地を作製し、河川や海泥質を中心に約90か所の試料を接種した。その結果、少なくとも20か所の集積培養液に赤色、赤褐色、黒色などの溶液変化（接種時は無色透明）が認められた。このうち安定した継体培養が可能な集積培養体から培養菌体を集菌して菌体から微粒子を抽出した<sup>2)</sup>。抽出した微粒子について元素分析、並びに電子顕微鏡観察を実施したところ、兵庫県夙川の泥質を接種し、セレン酸とカドミウムイオンを共存させた試料から、粒径が20～50nm以下の微粒子

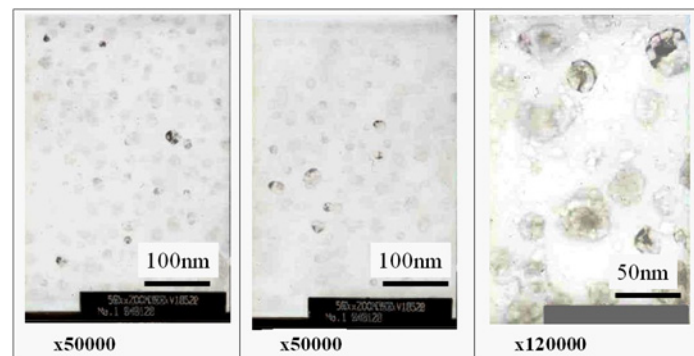


図1. セレン化カドミウムと考えられる微生物由来結晶の透過型電子顕微鏡写真. CdとSeで構成される50nm以下の粒径の結晶性微粒子（兵庫県夙川の泥質試料を接種した集積培養体の菌体から多数観察された。）

TEM images of biogenic nano-particles that were contained Cd and Se and were isolated from an enrichment of sediment in SHUKUGAWA in Hyogo.

が多数観察され、小さなものでは5～10nm程度の粒径であった（図1）。また、電子線回折像が撮られたことから微粒子は球・塊状の形態を持つ結晶性のナノ微粒子であると考えられた。更に、この微粒子についてエネルギー分散型X線微量分析を行い、構成している元素を調べたところ、セレン（Se）、カドミウム（Cd）が主要ピークとして確認された。以上のことから、微生物の代謝還元によってセレン酸のような有毒アニオンを還元し、カドミウムイオンと結合してセレン化カドミウムと考えられるナノ微粒子に変換、同時回収できる可能性が明らかとなった。また、カドミウムの代わりに亜鉛イオンを添加した集積培養体からは、ZnSeと考えられる微粒子の合成が確認されており、添加する重金属種を変えることで様々な含セレン金属結晶を合成できることも判明した<sup>3)</sup>。現在、蛍光半導体微粒子としての特性解析や合成に関与する微生物の分離、同定などの研究が進展中である。

セレン化カドミウム(CdSe)微粒子の場合と同様な発想で、テルル化カドミウム(CdTe)ナノ結晶合成の可能性についてさらに検討した。CdTeはCdSe同様 quantum dot（量子ドット）効果によって、結晶粒径が10nm以下の場合、その粒径が揃っているとバンドギャップに応じた蛍光性を有する蛍光性化合物半導体結晶である。また、テルルもレアエレメントとして回収が望まれる元素であり、亜テルル酸のような酸化物アニオンは生物毒性が強い化合物となるため、環境への影響が懸念されている。そこ

で、CdSe 合成の場合と同様な手法を用いて、CdTe ナノ結晶が合成可能な微生物の集積培養体の形成について検討した。その結果、新潟県の原油湧出地の泥質を接種した試料など、いくつかの集積培養体の菌体から Cd 及び Te で構成されるナノ微粒子の合成を確認した (図 2)。このような微粒子は集積培

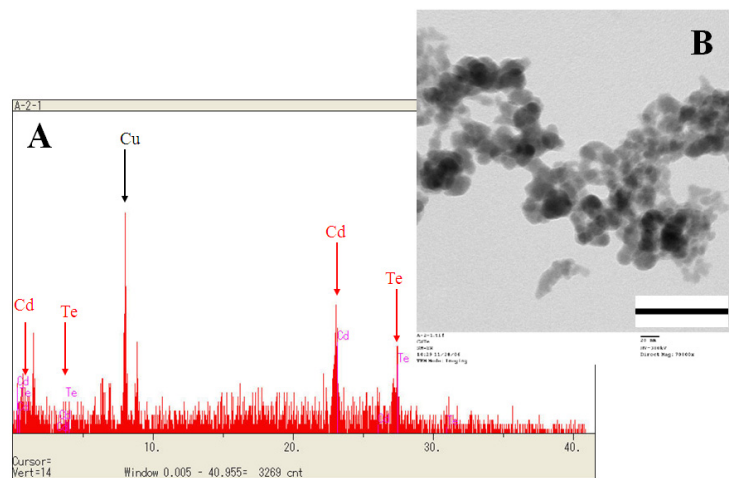


図 2. CdTe 結晶微粒子の合成を目的として新潟県シンクルトン記念公園建物裏沼試料を接種した集積培養体(SM-ER)の菌体に生成した微粒子の EDX 結果(A)、及び TEM 写真(B; Scale bar: 100nm).

Cu シグナルは Cu メッシュグリッドによるものである。

EDX analysis (A) and TEM images (B) of biogenic CdTe nano-particles that were obtained from an enrichment (SM-ER) of sediment in natural oil-producing ponds in Niigata.

養体から単菌分離した微生物株を培養した際にも形成された。合成されたナノ微粒子は、大きさが 5 ~20 nm 程度の粒径を持つ微粒子が凝集したような構造を持っており、高分解能透過型電子顕微鏡による観察では、多数の結晶面が観察された。このことから、マルチドメインの結晶性微粒子であることが分かり、電子線回折像の解析を行ったところ CdTe 結晶に特徴的な閃亜鉛鉱構造が認められた。また、回折リングのパターンが閃亜鉛鉱構造を有する標準物質の CdTe とも合致したことから、これらのナノ結晶がテルル化カドミウムであることが明らかとなった。

更に、培養菌体をアルギン酸ゲルで固定化して、CdTe ナノ結晶の合成による亜テルル酸イオン、及びカドミウムイオンからのテルル・カドミウムの同時回収を目的とした循環型リアクターの作製をおこなった。その結果、循環液からカドミウム、亜テルル酸両イオンがリアクターの運転とともに減少し、最終的には初発濃度 1mM の両イオンが運転 5 日目にほぼ循環液からなくなり、リアクターに黒色物質として変換された。この物質は、TEM, EDX, 電子線回折解析から CdTe のナノ微粒子結晶であることが確認され、菌体を固定化していない場合ではこれらの現象がみられなかった。これらの結果から、微生物の酸化還元反応によって両イオンの回収、有用ナノ微粒子への変換できることが明らかとなった。今後、生物による半導体性ナノ微粒子の合成機能を分子レベルで解明することが望まれるところである。

## Reference

- [1] 村瀬至生: ナノマテリアル最前線, 化学フロンティア, p.721, 化学同人 (2002).
- [2] 阪口利文, 松本光史: ECO INDUSTRY, p.34, シーエムシー出版 (2006).
- [3] 阪口利文, 松本光史: 特願 2004-162187 (2004).