

パン酵母による金のバイオソープションと新規材料の開発

飯島 遙 鈴木 峻平 椎木 弘 小西 康裕

Au Biosorption by Baker's Yeast and New Material Development

Haruka IIJIMA Shunpei SUZUKI Hiroshi SHIIGI Yasuhiro KONISHI

Abstract

E-Scrap, which is waste circuit boards from home appliances and various electronic devices, contains high concentrations of valuable metals such as gold, silver, copper, and palladium. As a raw material for smelting, it is desired to increase the amount of E-Scrap processing. However, there are many obstacles to increase throughput by extending existing processes. The practical application of metal recovery using micro-organisms (biosorption) is being considered to complement existing treatment methods. We focused on biosorption of gold in E-Scrap by baker's yeast. For the practical application of this technique, we developed a new large-scale experimental equipment that can treat more than 10 kg of E-Scrap in a batch and compared it with a beaker scale to confirm the usefulness of the technique. Furthermore, to create a unique material, gold ions adsorbed on the cell surface of yeast were successfully reduced to produce nanoparticles by adding a reducing agent. Using the yeast with gold nanoparticles, dispersions were prepared, highly sensitive labeling reagents for bacterial and conductive membranes with a reduced gold content were developed. This study shows that it is possible to synthesize functional materials with unique properties from gold in waste.

キーワード：金属リサイクル，バイオソープション，酵母，ナノ粒子，新素材

1. 緒 言

金は高い導電性や安定性，またその特徴的な光沢から，電子機器や医療，宝飾品等で用いられている。近年では金ナノ粒子の市場も拡大しており，2019年には2億1440万ドル，2025年には倍以上の4億7960万ドルもの市場になると予測されている¹⁾。しかし金の可採年数はあと20年との調査結果もあり²⁾，今後リサイクルは必要不可欠であるものの，そのリサイクル率は日本国内において2017年時点で34%と低調である³⁾。現在のリサイクルの主な原料は家電や各種電子機器類の廃基板であるE-Scrapである。E-Scrapには金や銀，銅，パラジウムといった有価金属が高濃度に含まれており，製錬原料の供給源として処理量の増加が望まれている。

貴金属の回収方法として，現在は原料を炉で溶解させ，金属を精製する乾式プロセスが主流である。しかしながらE-Scrap中の樹脂や重金属が操業に悪影響を及ぼすため，既存のプロセスの延長での処理量増加は困難である。一方，湿式プロセスは低コストで環境負荷も低く，低い金属濃度でも回収可能という特長を有している。表1に湿式の回収方法と適応濃度⁴⁾を示す。我々はこれら湿式

表1 金属濃度に応じた湿式分離方法
Wet separation technology based on metal concentration⁴⁾

回収方法	適応濃度
バイオ技術	<数 g/dm ³
イオン交換樹脂による補足	<数 g/dm ³
電解採取	数 100 mg/dm ³ ~数 10 g/dm ³
溶媒抽出法	数 g/dm ³ >

回収方法の中でもパン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) によるバイオ技術に注目した。パン酵母は細胞表面の官能基に溶液中の金属イオンを選択的に吸着するバイオソープションで知られている⁵⁾。本来は金の材料合成は純金に精製してから行うが，酵母で回収した金をワンステップでナノ粒子化させることで後段の精錬工程が省略可能となり，プロセスコストが低減できると考えている。我々はバイオ技術を用いてE-Scrapから金を低コスト・高効率で回収し，さらに新規の金ナノ粒子材料を作製する，図1のような新たなリサイクルフローの構築を目標としている。

本稿ではパン酵母によるE-Scrap中の金のバイオソープ

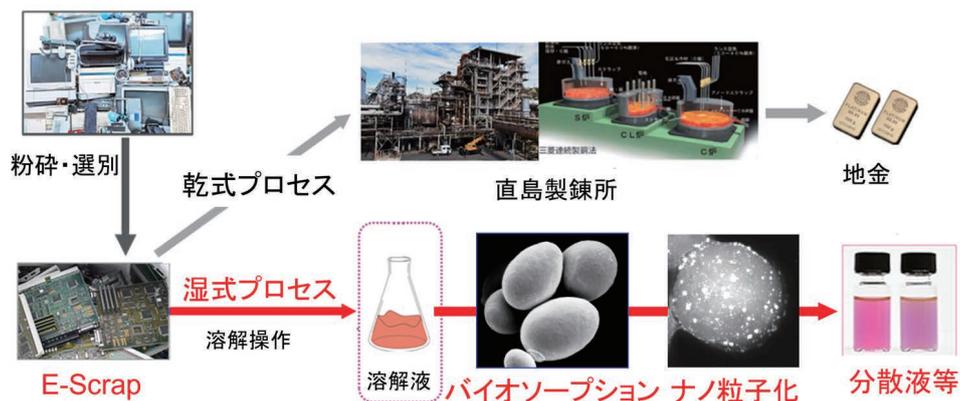


図1 E-Scrapの新規リサイクルフロー
New recycle flow of E-Scrap

クションを評価し、また本技術の実用化のため、スケールアップした実験機を新規に開発し、ピーカースケールとの比較を行い有用性を確かめた。

また、得られた金ナノ粒子担持酵母による新規材料の開発を行った。これまで、金属ナノ粒子とポリマー粒子との複合体により、細菌を検出する独自技術を開発している⁶⁾。これについて、ポリマーを実細胞に置き換えた材料開発を目指した。加えて、電子ペーパーやテキスタイル応用を意図した金ナノ粒子とセルロースナノファイバー(CNF)を複合した高強度・高導電率の新材料も作製している⁷⁾。これについても、酵母に吸着した金ナノ粒子を用いることで、リサイクル原料で且つ作製が容易な新材料の開発へと発展させた。

2. 実験方法

2.1 E-Scrapからのバイオソープション・ナノ粒子還元

実際に市場に流通しているE-Scrapを、イオン交換水で50%に希釈した王水に浸漬させ、1晩静置の後、残渣を取り除いてE-Scrapの溶解液を得た。誘導結合プラズマ発光分析(ICP)により、溶解した金属イオンの濃度を測定した。

次にE-Scrapの溶解液に乾燥酵母(オリエンタル酵母工業(株))を36 g/Lとなるように加え、攪拌して懸濁させた。5分間の攪拌後、遠心分離で固液分離し、孔径0.2 μmのフィルターで上澄み液をろ過した。ろ液中の金属イオンをICPで測定し、酵母添加前後の溶液中の金属イオン濃度の変化から、酵母への各金属の吸着率を算出した。ろ液に新たな乾燥酵母を加えて同様の操作を行うことで、多回バッチ操作による金回収率の向上を図った。また吸着操作後の酵母はイオン交換水で洗浄し、遠心分離で上澄みを除去した。この洗浄工程を3回繰り返し、金イオンを吸着した酵母を得た。

酵母上の金イオンを各種化学還元剤で還元し、酵母表面に金ナノ粒子を生成させた。還元後の酵母を3回洗浄し、金ナノ粒子担持酵母を得た。この酵母を透過型電子

顕微鏡(TEM)で観察し、暗視野顕微鏡で散乱スペクトルを得た。

これら技術の実用化検討のため、大型の実験機を組立て、スケールアップによる課題の抽出を行った。この実験機を用いると10 kg規模のE-Scrapの処理が可能となる。ピーカースケールと同条件で、酵母による金の吸着・還元剤によるナノ粒子生成を行った。

2.2 分散液の調製と新材料の作製

得られた金ナノ粒子担持酵母の材料応用を検討した。まず、酵母から金ナノ粒子を剥離し、金ナノ粒子分散液の生成を試みた。金ナノ粒子担持酵母に細胞壁溶解酵素(Zymolyase)を加え、分解した細胞を除去することで金ナノ粒子分散液を得た。同様にアルカリ処理としてNaOHを加えて沈殿した細胞を除去することでも金ナノ粒子分散液を得た。これらの方法によって得られたナノ粒子分散液について、粒径やゼータ電位の測定を行った。

次に、酵母上に金ナノ粒子が吸着した状態での材料応用を検討した。近年、金ナノ粒子とポリマー粒子からなる複合体を形成した後、細菌の抗体を導入し、構造体の光散乱に基づいた白色の散乱光で細菌の結合を識別する技術を確立している。このポリマー粒子を酵母に置き換えて細菌の検出を試みた。アスコルビン酸ナトリウムを還元剤として酵母上で金ナノ粒子を合成し、分子修飾により抗大腸菌O26抗体を導入した。抗体修飾した金ナノ粒子担持酵母と大腸菌O26を混合しスライドガラスに滴下、乾燥させ、暗視野顕微鏡で観察した。

また、我々はCNF分散液と金ナノ粒子分散液を混合、吸引ろ過して複合膜を作製する技術を確立している。これに対して金ナノ粒子を金ナノ粒子担持酵母に置き換えて複合膜を作製した。前述の金ナノ粒子担持酵母に塩化金酸、ヒドロキシルアミン塩酸塩、ポリビニルアルコールを添加し、再還元金担持酵母を得た後、この分散液とCNF懸濁液を混合し、ろ過・乾燥させることで複合膜を作製した。

3. 結果と考察

3.1 パン酵母によるバイオソープション

E-Scrapの溶解液に酵母を加えた際の各金属の吸着率を図2に示す。金の吸着率は96%となった一方、他の金属はほとんど吸着しない結果となった。金以外の卑金属に関しては酵母に付着しているだけであり、洗浄工程で洗い流すことが可能である。このことは後述の還元操作の後、酵母の周りに金以外の粒子は生成していないことから確認された。

ビーカースケールにおける溶液pHが同一の吸着試験について、吸着平衡時の液相の金イオン濃度と酵母上の金イオン濃度を図3に示す。各試験ごとの溶解液中の金イオン濃度や他の金属イオン濃度は異なるものの、吸着平衡線は線形関係になることが分かった。吸着平衡における液相の金濃度 C (mg/L) と酵母細胞金濃度 q (mg/kg) は、分配係数 K_d (L/kg) を用いて式1で示される。

$$q = K_d C \quad (1)$$

本試験においては分配係数 $K_d = 51$ となった。このことから、吸着平衡においては他の夾雑イオンの影響は受けず、金のみ選択的に回収できることが確かめられた。

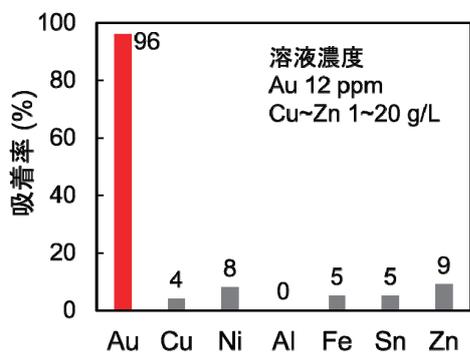


図2 各金属の吸着率
Adsorption ratio of each metal

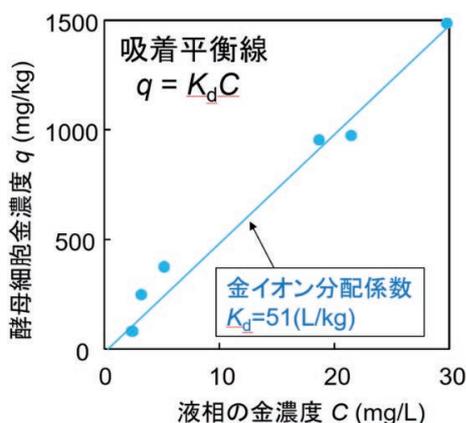


図3 金の吸着平衡
Adsorption isotherm of Au

図4に、アスコルビン酸ナトリウムを還元剤として用い、酵母上で金ナノ粒子を生成させたときのTEM像を示す。溶液の色も金ナノ粒子の生成を示すプラズモン共鳴により色が赤紫色に呈色した。アスコルビン酸ナトリウムとギ酸ナトリウムで還元した酵母の散乱スペクトルを、500 nm付近のピークで規格化し図5に示す。金ナノ粒子生成による散乱強度の増大が確認された。水素化ホウ素ナトリウム、ヒドロキシルアミン塩酸塩を還元剤としたときも金ナノ粒子が生成し、比較的還元力の弱い還元剤を用いても金ナノ粒子が合成できることが明らかとなった。またいずれの金ナノ粒子担持酵母も各還元剤による散乱強度やピーク波長は均一であったことから、一様に金ナノ粒子が生成していると示唆された。

次に図6に示す大型実験機を用いてE-Scrapの溶解から酵母によるバイオソープション、ナノ粒子への還元を行った。この実験機はE-Scrapを王水に浸漬させる溶解槽、酵母を添加し金イオンを吸着させる吸着槽、還元剤を加え金イオンを還元させる還元槽、廃液槽の4つの槽から構成され、各槽間が送液用の管でつながっている。各種操作条件を検討した結果、図7に示すように4回吸着試験を繰り返すことで金の総吸着率90.8%を達成した。

複数回吸着操作を行った結果と吸着等温式による図式解析を図8に示す。金イオンに関する物質収支から、操

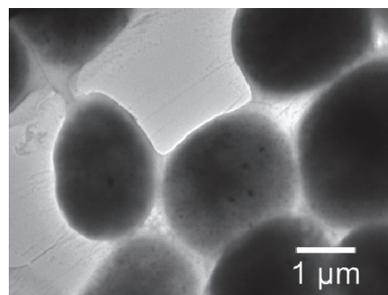


図4 金ナノ粒子担持酵母のTEM像
TEM image of yeast with Au nanoparticles

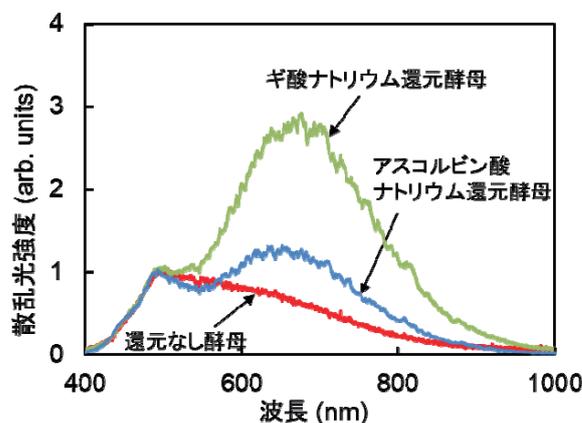


図5 金ナノ粒子担持酵母の散乱スペクトル
Scattering spectrum of yeast with Au nanoparticles



図6 大型実験機
Large-scale equipment

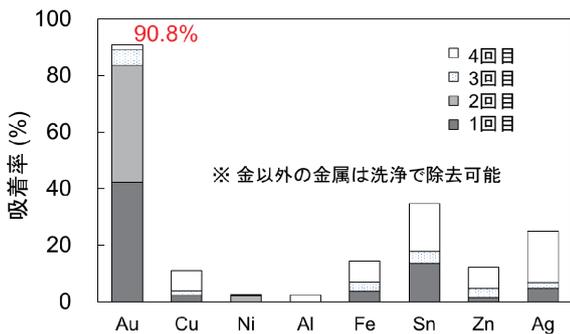


図7 複数回吸着による各金属の吸着率
Adsorption ratio of each metal upon repetition

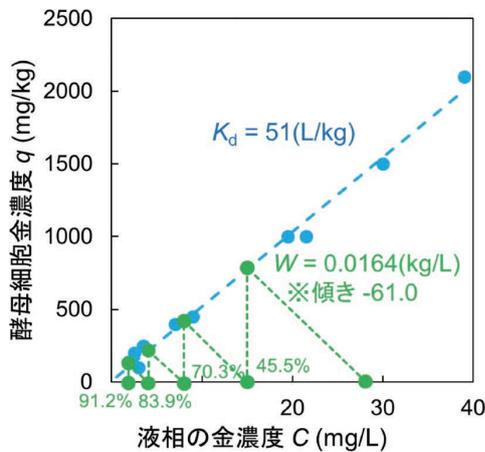


図8 金吸着率の解析
Analysis of Au adsorption ratio

作線は式2で与えられる。添え字 in と out は装置からの流入と流出， W (kg/L) は酵母添加量である。吸着の際に投入する酵母には金は含まれないため， q_{in} は0となる。各バッチ操作では吸着平衡が成立し， (C_{out}, q_{out}) は吸着平衡線上に位置する。そのため n 回目の金イオン総吸着率 η_n は式3で表される。

$$(q_{out} - q_{in}) / (C_{out} - C_{in}) = -1/W \quad (2)$$

$$\eta_n = 1 - (1 + K_d W)^{-n} \quad (3)$$

本試験においては金の初期濃度 28 mg/L の溶液を用い，0.0164 kg/L の酵母濃度になるように酵母を投入した。式2より，ビーカースケールの試験で得られた吸着等温線との交点を算出すると，1回目の吸着終了時点で液相には 15.5 mg/L の金が残存している。よって吸着率は 45.5% となる。同様に4回目までの吸着率を算出した結果を表2に示す。この結果より，ビーカースケールで得られた分配係数を用いてスケールアップした際の金の吸着率を説明でき，スケールアップの成功を確認した。また金イオンの総吸着率の理論値は実測値と良好に一致したことから，吸着操作の所要回数を理論的に求める手法が確立できたとと言える。

次に，還元槽で金ナノ粒子を吸着した酵母に水素化ホウ素ナトリウムを加え，酵母上で金イオンを還元した。この酵母をTEMで観察したところ，金ナノ粒子の生成が確認できた。また吸着した金イオンの内97.4%の還元が確かめられた。還元剤の種類によりビーカースケールと同様ナノ粒子の大きさや分散状態を制御できると考えられる。

3.2 新規材料の評価

金ナノ粒子担持酵母から分散液を作製した。その粒径とゼータ電位を表3に示す。還元剤としてヒドロキシルアミン塩酸塩を用いた場合のみ酵素処理，アルカリ処理のみでも分散液を得ることができたが，他の還元剤による還元では酵素処理に加えてアルカリ処理も行うことで分散液を得た。いずれの分散液もプラズモン共鳴に基づく赤紫色に呈色し，これまでにない新規の分散液の作製手法となった。また還元剤によって粒径の異なる様なナノ粒子分散液が得られることが分かった。

図9(a)に金ナノ粒子複合体による大腸菌検出の模式図を示す。抗体を介して金ナノ粒子と大腸菌が結合し，散乱光が観測される。図9(b)にはポリマーと金ナノ粒

表2 スケールアップの吸着率
Adsorption ratio of scaling-up

吸着率 (%)	1回目	2回目	3回目	4回目
計算値	45.5	70.3	83.9	91.2
実測値	42.3	83.6	89.0	90.8

表3 Auナノ粒子の粒径とゼータ電位
Particle size and zeta potential of Au nanoparticles

還元剤	粒径 (nm)	ゼータ電位 (mV)
水素化ホウ素ナトリウム	1.1 ± 0.1	-20.3
アスコルビン酸ナトリウム	19.3 ± 5.3	-23.2
ギ酸ナトリウム	20.8 ± 2.2	-18.2
ヒドロキシルアミン塩酸塩	49.3 ± 13.7	-20.0

子の複合体, 図9(c)にはポリマーを酵母に置き換えた複合体の暗視野顕微鏡像を示す⁶⁾。いずれの複合体においても金ナノ粒子由来の白色の散乱光が観測され, O26の識別に成功している。このことから金ナノ粒子担持酵母によっても大腸菌の選択的な検出が可能と言える。なお, 本技術は細菌の培養を必要とせず, 1時間以内での迅速な検査が可能のため, 今後新たな検査手法としての実用化が期待される。

図10に金ナノ粒子担持酵母とCNFを混合して得られた複合膜の外観と模式図, 図11に表面と断面の走査型電子顕微鏡 (SEM) 像を示す。金ナノ粒子とCNFの複合膜は, 金の含有率13 vol%において金並みの導電性 ($2.9 \times 10^{-6} \Omega \text{ cm}$) を示すことが報告されている⁷⁾。このときの膜の引張強度特性は金板の5倍以上である。一方, 金ナノ粒子担持酵母とCNFの複合膜においても, 金の含有率14.9 vol%で導電率は $1.0 \times 10^{-5} \Omega \text{ cm}$ と金属膜に匹敵する

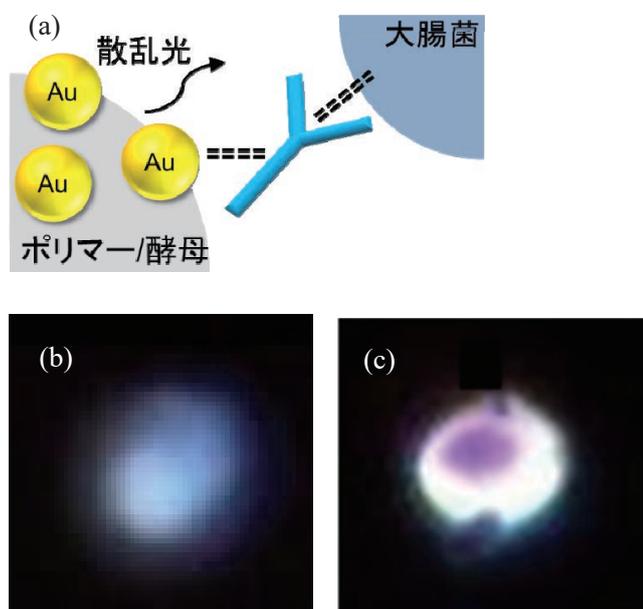


図9 (a) 散乱光による細菌検出の模式図 (b) ポリマー粒子複合体による大腸菌検出 (c) 酵母複合体による大腸菌検出

(a) Schematic diagram of cell detection by scattering light
Detection of *E. coli* by (b) Polymer complexes (c) Yeast complexes

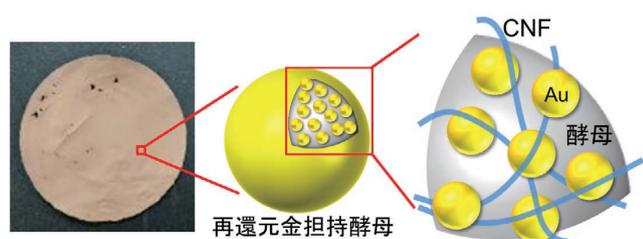


図10 金ナノ粒子担持酵母とCNFの複合膜
Yeast with Au / CNF hybrid membrane

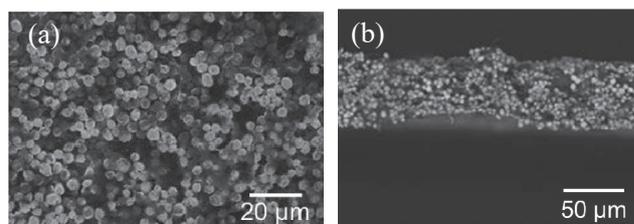


図11 金ナノ粒子担持酵母とCNFの複合膜のSEM像 (a) 表面 (b) 断面

SEM image of yeast with Au / CNF hybrid membrane
(a) Surface, (b) Cross section

値となった。また強度も金ナノ粒子-CNf複合膜と同等であった。CNfは酵母粒界に存在し, バインダとして機能すると考えられ, 酵母によって体積が増えても導電性や強度への影響は軽微であることが確かめられた。金特有の光沢は劣るものの金属的な導電性は十分に有しており, 次世代デバイスへの新たなリサイクル材料応用として期待できる。

4. 結 言

新材料開発に向けたE-Scrap中の金の回収のため, パン酵母によるバイオソープションを検討した。高効率で高速な回収が可能であり, 90%以上の吸着率を達成した。また酵母上で金イオンを還元し, 金ナノ粒子担持酵母を作製した。これら技術の実用化のためスケールアップした装置を新設し, ビーカースケールと同等の効率での金の回収を可能とした。

また金ナノ粒子担持酵母の応用として, 分散液の作製をはじめ, 細菌の検査標識や金含有量を低減させた導電膜を開発した。従来の材料を酵母に置き換えても同等の性能が確認され, 金ナノ粒子担持酵母の材料としての有用性が明らかとなるとともに, 次世代材料として期待される。

文 献

- 1) IMARC, Gold Nanoparticles Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2020-2025.
- 2) (独) エネルギー・金属鉱物資源機構, 鉱物資源マテリアルフロー2018 金 (Au)
- 3) C. Yamauchi, *Journal of MMIJ*, **131**, 103-114 (2015).
- 4) J. Shibata and A. Okuda, *Journal of MMIJ*, **118**, 1-8 (2002).
- 5) N. Saitoh, R. Fujimori, M. Nakatani, D. Yoshihara, T. Nomura and Y. Konishi, *Hydrometallurgy*, **181**, 29-34 (2018).
- 6) S. Tanabe, S. Itagaki, K. Matsui, S. Nishii, Y. Yamamoto, Y. Sadanaga and H. Shiigi, *Anal. Chem.*, **94**, 10984-10990 (2022).

- 7) H. Shiigi, T. Tomiyama, M. Saito, K. Ishiki, D. Nguyen, T. Endo, Y. Yamamoto, X. Shan, Z. Chen, T. Nishino, H. Nakao and T. Nagaoka, *Chem. Nano Mat.*, **5**, 581–585 (2019).



飯島 遥 Haruka IJIMA
開発 PMO-B2



鈴木 峻平 Shunpei SUZUKI
開発 PMO-C1

椎木 弘 Hiroshi SHIIGI
大阪公立大学 教授

小西 康裕 Yasuhiro KONISHI
大阪公立大学 客員研究員・名誉教授