身近で活躍する有用微生物
環境と有用微生物 7.

レアアース代謝微生物

山下光雄（やました みつお）
Mitsuo YAMASHITA

はじめに

メタル、特にレアメタル（希少金属）は現代社会において不可欠の物質であり、供給を確保する必要がある。反して、レアメタルの使用量の増加により知らず知らずのうちに環境汚染が生じ環境浄化と資源循環社会の構築が望まれる。“メタルバイオテクノロジー”[1] は私的な造語であり、「生物による多様な金属類の代謝や、金属類との相互関係に関わる反応を利用する生物学的技術である」と定義している。これまで、金属類の採鉱、製錬や加工から処理・処分までのサイクルに関わる物理・化学的プロセスを生物学的なプロセスに置換するものである。“メタルバイオテクノロジー”は、既存技術において生じていた問題の解決や、全く新規な金属類の技術開発に希望を与えるものである。

I. レアメタルの資源問題

レアメタルに分類される金属は、経済産業省により「地球上の存在量が稀であるか、技術的・経済的な理由で抽出困難な金属のうち、現在工業需要があり今後も需要があるもの」と定義され、47 元素が指定されている。多くのレアメタルは現代・次世代産業を支える重要な材料であり、世界的に需要が増え続けている。しかし、多くのレアメタルが資源の埋蔵量や生産地域が限られていることから、供給の安定化が大きな課題となっている[2]。その一方で、使用量の増大により、製造過程で排出される廃水・廃棄物や使用後の廃製品として環境中に流失するレアメタルも増加している。

このような背景から、レアメタルを含む廃水・廃棄物が「都市鉱山」、すなわち新たな資源として注目されている。しかし、都市鉱山からの資源回収には、低濃度・混合系の廃棄物からレアメタルを抽出・分離・濃縮方法を確立するという大きな課題があり、これらを解決できる方法や技術開発が進められている。レアメタルのうち、スカンジウム（Sc）、イットリウム（Y）、ランタン（La）からルテチウム（Lu）までの 17 元素のグループは、一般的に希土類元素、あるいはレアアースと呼ばれており、本稿では耐熱性強力磁石への需要が増え続けているネオジム（Nd）やプラセオジム（Pr）、ジスプロシウム（Dy）を含むレアアースに注目する。Nd の需要は、2008 年のピークを境に生産国の資源政策などによる価格高騰で減少傾向にあったが、2014 年以降生産量が回復し、再び増加している[2]。また耐熱性強力磁石を用いる次世代型自動車（HV、PHV、EV）は、環境対応型自動車として今後もさらに需要が拡大することが見込まれており、材料である Nd、Pr、Dy などの安定供給は重要な課題である。そのため、これらの元素が含まれる廃製品や製錬残渣、廃水からのレアアース資源回収技術の開発が注目されている。

II. メタルバイオテクノロジー

前述したように、適切な回収、再資源化に加え、すでに拡散してしまったメタル環境汚染に対する低環境負荷型の効率的な環境修復方法の開発や、メタルの使用増量によって生じる新たなメタル汚染対策も必要である。

“メタルバイオテクノロジー”は、既存の物理・化学的プロセスによる金属類の採鉱、製錬や加工、利

芝浦工業大学 工学部 応用化学科 生命化学研究室 教授
〒135-8548 東京都江東区豊洲 3-7-5

College of Engineering, Department of Applied Chemistry, Life Science Laboratory, Shibaura Institute of Technology (3-7-5 Toyosu, Koto-ku, Tokyo)

用から処理・処分までに関する技術を生物学的なプロセスに置換しようとする、新規な発想のものである。典型的な反応には、固相中の金属類の液相への抽出作用としてのバイオリーチング（Bioleaching）、液相等の金属類の鉱物化・固化作用としてのバイオミネラリゼーション（Biomineralization）、金属類の気化作用としてのバイオボラタリゼーション（Bio-volatilization）、金属類の細胞表面や分泌物等への吸着作用としてのバイオソープション（Biosorption）、金属類の能動輸送によって細胞内部に移送し蓄積させることで除去するバイオアキュミュレーション（Bioaccumulation）などが挙げられ、金属類の酸化数の変化、無毒と有害形態間の変換、三相間の相変化、溶解性・吸着性の増減による液相・固相間での分配、濃縮、溶出等といった現象として観察される。これによって、廃水や廃棄物からの有害金属類の除去・処理や汚染環境修復、有用金属の自然界からの濃縮や資源回収・リサイクル、金属類の変換・加工や新材料開発等の生産プロセスへの応用など広範な分野への展開が期待されるものである[1)]。しかし、実用技術として社会実装されているのは、鉱業におけるバイオリーチングや金属含有廃水・廃棄物処理といったごく一部分に過ぎないものの、新しい酵素や遺伝子が発見されており、さらにそれらに基づいた新規な金属代謝反応も見出されている。

Ⅲ. レアメタル代謝微生物の探索

資源回収に微生物を用いる利点は、生物反応のもつ①反応特異性、②循環型環境適合性、③省資源・省エネルギー性、④安全性である。微生物と金属の反応にはすでに説明しているように、抽出 Bioleaching、固化 Biomineralization、気化 Biovolatilization、吸着 Biosorption、および蓄積 Bioaccumulation がある。近年、特に 2000 年以降にレアアースと上記反応を示す微生物探索・分離や、微生物機能を用いたレアアース回収などが報告されている[3～5)]。

専門外の多くの読者にとって、微生物の探索をイメージするのが難しいかもしれない。そこで簡単に概要を説明する。誤解を恐れずに言ってしまえば、微生物の探索はフィッシングと似ている。フィッシングは目的の魚が生息する海域へ行き、その魚に合った仕掛けや餌を用いて、釣り糸を海へ投げ入れる。微生物の探索も同様に目的の微生物が生息していると思われる環境の土壌や排水を採取し、目的に合った条件で培養し、最終的には寒天培地上で単細胞からなる微生物の集落（コロニー）を釣菌し分離する（**図 1**）。このようにして、海水や深海底、酸性湖、廃鉱山、工場などさまざまな環境から金属代謝微生物が分離されている。重金属が溶けやすい環境や高濃度で存在する環境は、生物にとっては住みにくい環境であり[6)]、レアアースも例外ではなく微生物に対して毒性を示す[7)]。しかし、そうした厳しい環境で生存している微生物の中には、レアアースを何らかの形で代謝利用または体外排出する能力を有する微生物も存在する。そうした特殊な能力を備えた微生物を環境から探し出すのである。

イタリア、ナポリ近郊にある Solfatara 火口の泥間

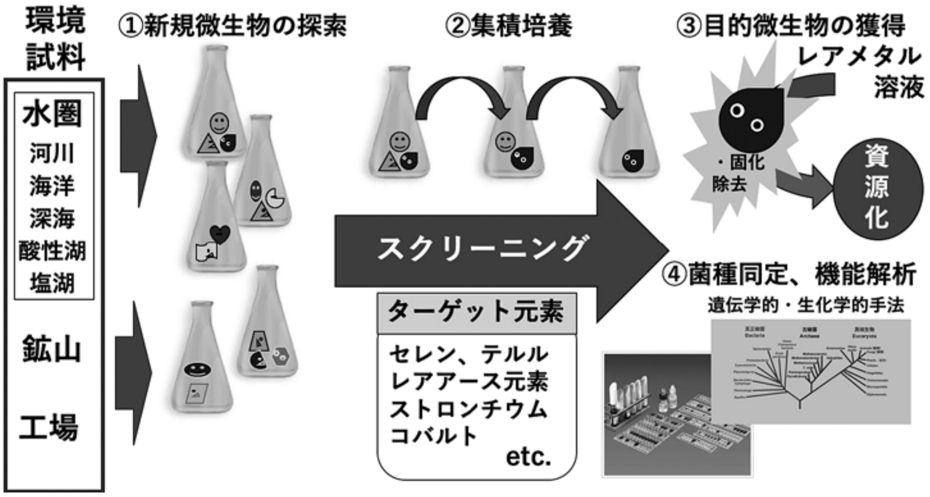

図 1　微生物のスクリーニング概略

欠泉から分離された *Methylacidphilum fumariolicum* SolV は、この泥間欠泉の水を用いた培地でのみ増殖できる微生物である[8]。この泥間欠泉の水を調べたところ、La および Ce、Nd などのレアアースを 3 μM ほど含むことがわかった。そこで、Ce を添加した培地を用いて SolV 株を培養したところ、顕著な増殖が見られた。また、60 μM の Ce を加えた培地における SolV 株の培養では、培養 40 時間ほどで菌体の増殖とともに溶存 Ce が完全に取り除かれた。この SolV 株の代謝能を詳しく調べると、メタン資化能を有していた。一般的に、メタン資化微生物はメタンを分解して増殖に必要な細胞構成材料の炭素源やエネルギーを獲得する。このメタン分解を担うメタノール還元酵素のうち、その構造にレアアースを含むものが知られている[8]。SolV 株はこうしたメタン資化微生物であり、レアアース要求性の微生物であると考えられる。

Ⅳ. Bioleachingによるレアアース回収の試み

Bioleaching による金属の回収は、銅（Cu）、ニッケル（Ni）、コバルト（Co）、亜鉛（Zn）などで古くから工業利用されている。Cu においては世界の生産量の 20%を担っていると報告されている[9]。

レアアースにおいては、工業利用に向けた研究が盛んに行われている。レアアースの溶出源としては、ボーキサイト残渣の赤泥など製錬残渣や低品位鉱物、またレアアースが使用された電子機器などの廃棄物からのレアアース回収が試験されている。

Penicillium tricolor RM-10 は真核微生物（俗に言うカビの仲間）であり酸を生産する。この RM-10 株を用いて赤泥からレアアースを溶出するプロセスの構築が試みられており、36-78%のレアアース溶出に成功している[10]。

硫酸生成微生物の *Acidothiobacillus thiooxidans* とシアン生成微生物の *Pseudomonas putida* を組み合わせて電子機器廃材から REE や金（Au）の溶出が試みられている[11]。まず *A. thiooxidans* を用いたプロセスで、99%の Ce とユウロピウム（Eu）、80%の La と Y を溶出する。次に、*P. putida* を用いたプロセスで 48%の金を溶出させることに成功している。

そのほかに、リン酸溶出微生物を用いたモナザイトなどレアアースリン酸鉱物からの選択的レアアース溶出も試みられており[12]、今後もレアアースバイオリーチングの工業利用に向けて様々な研究が継続すると思われる。

Ⅴ. Biomineralization, Biosorption, Bioaccumulationによるレアアース回収の試み

1. 吸着・固化メカニズム

微生物による金属の吸着・固化についても古くから研究されており、Au、銀（Ag）、Cu、Ni、パラジウム（Pd）、ウラン（U）などを吸着する微生物が多く知られている[3, 13]。レアアースの吸着・固化に関する研究は 2000 年以降に盛んに研究が行われており、そのメカニズムも徐々に明らかになってきている。微生物によるレアアースの吸着メカニズムは、そのほとんどが細胞表面に表出している官能基（カルボキシ基やリン酸基）へのイオン交換的吸着である（図 2）。

2. 好酸性好熱性微細藻類 *Galdieria sulphuraria*

レアアースが溶存しやすい酸性条件下では吸着能が低下することから、実用化までは至っていない。一方で、pH の問題を解決するために、酸性条件下でレアアースを固化し、細胞内に取り込む微生物も探索されている。*Galdieria sulphuraria* は温泉地に生息する好酸性好熱性微細藻類であり、つまり酸性、高温条件で増殖しやすい微生物である。pH1.0-2.5 で Nd、Dy、La を取り込むことが知られている[14]。特に、pH1.5-2.5 ではレアアース回収率 100%であ

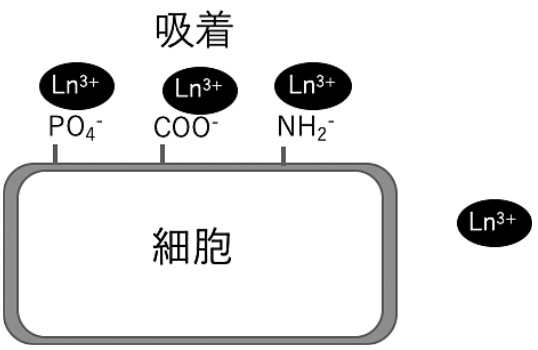

図 2　細胞表面へのレアアース吸着機構
（Ln^{3+} はランタノイドイオンを示す）

ることから、酸性領域でのレアアース回収プロセスへの応用が期待される。

3. 好酸性真核微生物 *Penidiella* sp. T9

好酸性真核微生物の *Penidiella* sp. T9 は、以前 Dy をターゲット元素としてスクリーニングを行い廃鉱山から分離した微生物で、pH2.5 の酸性条件下で 100 ppm の溶存 Dy を 50%近く固化回収することができる[15]。さらに T9 株は Dy だけでなくそのほかのレアアース（Yb、Tm、Sm、Lu、La、Ho、Gd、Er、Ce、Y、Tb、Pr、Eu、Nd）を 30-60%ほど固化回収できるが、レアアースと同じ 3 価の金属：Zn、インジウム（In）、ガリウム（Ga）、アルミニウム（Al）、また 2 価の金属：ストロンチウム（Sr）、マンガン（Mn）、Cu、Co、Fe は固化しないことから、レアアースを選択的に固化することを明らかにした。さらに、T9 株の Dy 固化能を向上させるために培養条件の最適化実験を行ったところ、リン源を培地に多く添加することによって Dy 固化回収率が 95%にまで向上させることに成功した[16]。次に培養液量を増加するために、フラスコ培養レベルからのスケールアップ試験を行ったところ、実容量 60 L の培養でも Dy 固化率 95%以上を達成した。

T9 株の Dy 固化能の性状解析も進めている。まず、Dy 固化物の局在性および形状観察を行うために、電子顕微鏡および X 線元素分析（SEM-EDX）を行った。T9 株の 1 細胞は 10 μm ほどの桿状細胞をしており、Dy 回収試験後には複数の細胞が凝集していることが分かる（**図 3** 左上）。この凝集体を EDX により Dy マッピングを行ったところ、細胞表面を覆うように Dy の固化物が集積していたことが明らかとなった（**図 3** 左下）。Dy 固化後の T9 株細胞凝集体の断面を観察したところ、細胞表面に 0.5 μm ほどの厚みで Dy 固化層が形成されていた（**図 3** 右）。さらに細胞内部を詳しく観察すると数 nm の粒子が蓄積していることも明らかとなった（**図 3** 右矢印）[16]。T9 株が細胞に集積した Dy 固化物の化学性状を X 線吸収微細構造法（XAFS）および X 線光電子分光法（XPS）、X 線回折法（XRD）で分析したところ、この固化物はアモルファス状の $DyPO_4$ であることが明らかとなった。以上のことから、T9 株が溶存 Dy をアモルファス $DyPO_4$ に変換し、細胞表面に集積する機構や細胞内に取り込む機構を有していることが示唆された。

Dy を回収するために、T9 株に固化蓄積された Dy を物理化学的方法によって菌体から精製する方法の確立を試みた[11, 17]。すなわち、(1) 菌体ごと焼成する加熱処理法および、(2) 溶解剤を用いて菌体から Dy を脱離する処理法である。まず、熱重量測定（TG）を用いて加熱試験を行った結果、550℃から 1000℃で重量変化が平衡状態に達した。この焼成物を XRD に供したところ、結晶性の高い $DyPO_4$ と一致した。このことから、T9 株を用いて固化回収した Dy を 550℃以上で焼成することで結晶性の高い

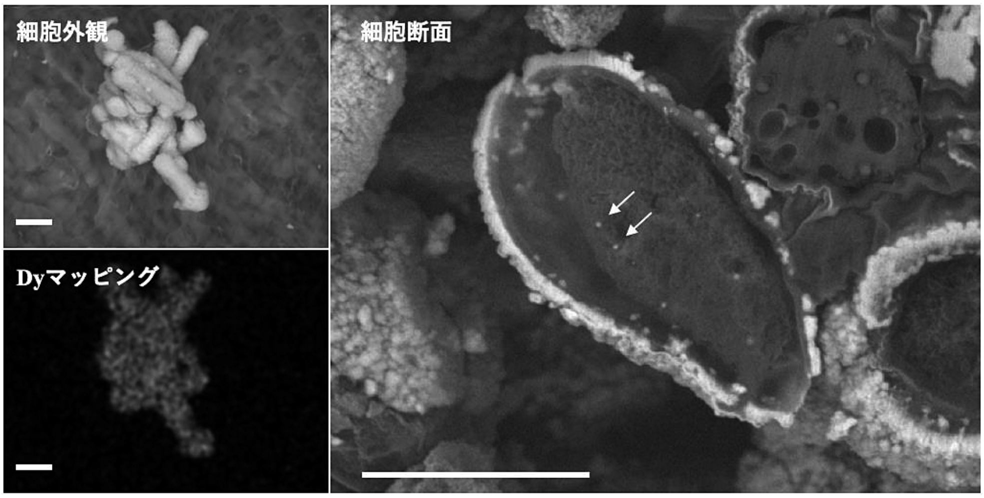

図 3 Dy 集積後の T9 株細胞の SEM-EDX 像

細胞凝集体の外観の反射電子像（左上）とその Dy マッピング像（左下）、細胞凝集体の断面の反射電子像（右）、細胞内の Dy ナノ粒子（右矢印）スケールバー：5 μm

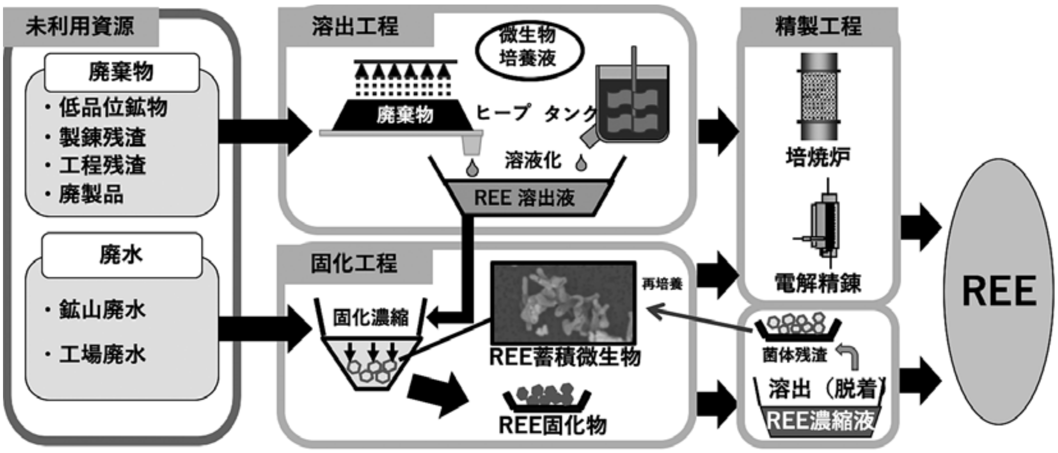

図4 微生物を用いたレアアース固化回収プロセス（REE はレアアースを示す）

$DyPO_4$として精製する方法を確立した。次に、脱着処理法の検討を試行した。脱着剤として、HCl溶液およびキレート剤であるエチレンジアミン四酢酸（EDTA）溶液を用いてT9株からのDy脱着試験を行った。その結果、300 mM HClまたは30 mM EDTAにより100％のDyを3時間でT9株から脱着回収することに成功した[17)]。以上のことから、加熱処理法により$DyPO_4$として、脱着処理法により再溶解Dyとして、T9株からDyを回収するプロセスを構築することに成功した（**図4**）。

脱着プロセスで残存したT9株を再培養してDy固化回収に用いたところ、初回のDy固化率と同等の固化回収能を示した[16)]。このことから、T9株を用いた固化・脱着の連続したDy回収プロセスも構築できると考えている（**図4**）。こうした連続プロセスを構築することは、生物プロセスの利点の一つである省エネルギー、低コスト化につながる。このT9株のDy固化能に着目して微生物担体を作製し、実廃液からのレアアース回収プロセスの構築を目指した研究を進めており、現状ではラボスケールで95％以上のレアアース回収率を達成している。

おわりに

メタルバイオテクノロジーによる、特異な微生物によるレアアース回収を中心に話を展開した。微生物の金属代謝能の利点を活かした応用例はすでに述べた通りである。しかし、物理化学プロセスと比べると反応速度が遅いこと、生物を用いていることで安定した運用管理に不安があることなどが問題視されている。反応速度などプロセス部分に関しては、生物反応の最適化を行うことや、生物プロセスと物理化学プロセスを相乗的に組み合わせることで、これまで放置されてきた未利用資源を有効利用する活路を見出せるものと期待する。運用に関する問題においては、醸造、醗酵食品、製薬、下水処理など生物反応を利用した産業や技術は数多く存在することから、多種多様な組み合わせにより改善できるところはあると考える。このように、これまでに見られなかったような様々な分野の専門家がタッグを組み、環境浄化と資源枯渇の問題に取り組むことで大きなブレイクスルーを見出せると信じている。

文　献

1）山下光雄, 清和成編集. 地球を救うメタルバイオテクノロジー －微生物と金属資源のはなし－. 東京:成山堂書店; 2014.
2）独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構. 鉱物資源マテリアルフロー 2018. 2019.
3）Gupta NK, Gupta A, Ramteke P, et al. Biosorption-a green method for the preconcentration of rare earth elements（REEs）from waste solutions; A review. J. Mol. Liq. 2019; **274**: 148-164.
4）Zhuang W-QQ, Fitts JP, Ajo-Franklin CM, et al. Recovery of critical metals using biometallurgy. Curr. Opin. Biotechnol. 2015; **33**: 327-335.
5）Nancharaiah YV., Mohan SV, Lens PNLL. Biological and bioelectrochemical recovery of critical and scarce metals. Trends Biotechnol. 2016; **34**: 137-155.
6）Gadd GM. Metals, minerals and microbes; geomicrobiology and bioremediation. Microbiology. 2010; **156**: 609-643.
7）Brown PH, Rathjen AH, Graham RD, et al. Rare earth elements in biological systems, In K.A. Gschneidner Jr., L.

Eyring (eds.), Handbook on the physics and chemistry of rare earths. Netherland: Elsevier Science Publishers; 1990. 423-452.
8) Pol A, Barends TRM, Dietl A, et al. Rare earth metals are essential for methanotrophic life in volcanic mudpots. Environ. Microbiol. 2014; **16**: 255-264.
9) Jerez CA. Biomining of metals: how to access and exploit natural resource sustainably. Microb. Biotechnol. 2017; **10**: 1191-1193.
10) Qu Y, Lian B. Bioleaching of rare earth and radioactive elements from red mud using *Penicillium tricolo*r RM-10. Bioresour. Technol. 2013; **136**: 16-23.
11) Marra A, Cesaro A, Rene ER, et al. 2018. Bioleaching of metals from WEEE shredding dust. J. Environ. Manage. 2018; **210**: 180-190.
12) Fathollahzadeh H, Eksteen JJ, Kaksonen AH, et al. 2019. Role of microorganisms in bioleaching of rare earth elements from primary and secondary resources. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2019; **103**: 1043-1057.
13) Volesky B, Holan ZR. Biosorption of heavy metals. Biotechnol. Prog. 1995; **11**: 235-250.
14) Minoda A, Sawada H, Suzuki S, et al. Recovery of rare earth elements from the sulfothermophilic red alga *Galdieria sulphuraria* using aqueous acid. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015; **99**: 1513-1519.
15) Horiike T, Yamashita M. A new fungal isolate, *Penidiella* sp. strain T9, accumulates the rare earth element dysprosium. Appl. Environ. Microbiol. 2015; **81**: 3062-3068.
16) Horiike T, Kiyono H, Yamashita M. *Penidiella* sp. strain T9 is an effective dysprosium accumulator, incorporating dysprosium as dysprosium phosphate compounds. Hydrometallurgy. 2016; **166**: 260-265.
17) Horiike T, Kiyono H, Yamashita M. Dysprosium biomineralization by *Penidiella* sp. strain T9. *In* Endo, K, Kogure, T, Nagasawa, H (eds.), Biomineralization. Singapore: Springer; 2018. 251-257.