

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 4 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24540516

研究課題名(和文) 球面収差補正電顕を用いたナノ鉱物の原子状態精密解析と核種移行挙動の解明

研究課題名(英文) Atomic-scale analysis of nanominerals and behavior of the associated radionuclides using Cs corrected TEM

研究代表者

宇都宮 聡 (Utsunomiya, Satoshi)

九州大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40452792

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は、地球表層に普遍的に存在する鉱物ナノ粒子の特性を理解するために、最先端の高分解能電子顕微鏡を用いて原子スケールでナノ粒子の分析を行った。鉄酸化物、CeO<sub>2</sub>ナノ粒子のSTEM分析によって配位不飽和な表面原子が観察された。また、環境に普遍的に存在する微生物とナノ粒子の相互作用を調べ、biogenicがナノ粒子の特徴的な結晶構造、またナノ粒子が微生物の代謝に与える影響を微生物放出物の変化と内部タンパク質の発現によって解析した。さらに微生物放出物はナノ粒子の表面を覆うことで凝集挙動に影響を与え、表面電荷を中性にするにもかかわらず立体斥力の形成によって凝集を抑制することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：This study performed nanoscale analysis of natural nanoparticles that ubiquitously occur on the Earth surface by means of high resolution transmission electron microscopy in conjunction with a variety of bulk analytical techniques. In Fe and Ce oxide nanoparticles, the surface atoms revealed lower coordination number than bulk. The relationship of nanoparticle with environmental nanoparticles was also investigated. After interaction of microorganisms with inert nanoparticles, the microbial metabolisms were slightly affected; The relative composition of the extracellular polymeric substances (EPS) has been changed as revealed by high performance liquid chromatography. Peptide mass finger print analysis of the intracellular substances exhibited an expression of Eno2p, which is involved in glycolysis of metabolism. The impact of EPS on nanoparticle agglomeration was also evaluated and the adsorption of EPS formed steric barrier resulting in stabilization of colloids.

研究分野：環境物質科学

キーワード：環境ナノ物質 電子顕微鏡

### 1. 研究開始当初の背景

粒子サイズが1ミクロンよりも小さいナノ鉱物は地球表層環境に普遍的に存在する。ナノ鉱物は比表面積が大きいという特徴があるだけでなく、物理化学的特性に変化が現れる。10nm以下になると熱力学的特性、(標準生成自由エネルギー、エンタルピー、表面エネルギー)が変わり安定相の変化がみられることや (McHale et al., 1997; Navrotsky, 2004)、格子の歪みの存在 (Gilbert et al. 2004)、水和状態での歪み解消 (Waychunas and Zhang 2008) が報告されている。また、吸着反応の pH 依存性変化 (Madden et al. 2006)、吸着された金属の酸化速度の加速 (Hochella et al. 2008) などの化学反応性の変化が示されてきた。最近 Gilbert et al. (2009)によって 5nm 程度の酸化鉄ナノ粒子の凝集プロセスが物理化学的条件によって変化し、その結果吸着反応も凝集過程によって変化することが報告されている。天然ナノ鉱物のナノサイズ特性に関する知見が得られてきている一方で、ナノ粒子を構成する原子の状態に注目した直接分析による評価が十分ではなかった。また、天然に普遍的に存在する微生物の存在、その影響は無視できない。しかしながら鉱物ナノ粒子との相互作用に関する知見はほとんど見られていない。

### 2. 研究の目的

球表層に普遍的に存在するナノ鉱物、「コロイド」は、低溶解度の有害金属を吸着・取り込んで遠隔へ拡散させる要因の一つであり、その性質、挙動を正確に理解する必要がある。本研究は、遷移金属酸化物ナノ粒子(鉄酸化物ナノ粒子)と非組成元素(d, fブロック元素)の相互作用、サブ電子プローブを用いた共沈生成ナノ粒子の原子状態解析による特性評価、ナノ粒子と微生物の相互作用を実験的に解明すること、ナノ鉱物粒子の性質、移行特性を組み込んだコロイドを媒介とした一次元核種移行モデルの再構築を目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 酸化物ナノ粒子(FeとMn)のサイズ制御合成法を確立する。合成方法は水熱合成法、燃焼酸化法を用いて合成条件を多様化しサイズ制御する。各実験条件で得られたナノ結晶サンプルに対して、粉末X線回折(XRD)、電子顕微鏡(TEM, SEM) BET表面積測定、動的光散乱(DLS)法、紫外-可視分光法(UV-Vis)を用いて合成ナノ粒子の基本性能を評価する。特性評価の結果を基に、サイズ制御合成反応の実験条件最適化をおこなった。

合成したナノ粒子に対してゼータ電位測定後、選択したdブロック・fブロック元素の吸着・脱着実験をおこなう。吸着量の定量化のため、溶液分析を誘導結合プラズマ発光分析、質量分析(ICP-AES, -MS)を用いて行う。吸着・脱着の物理化学的条件(pH、イオ

ン強度、酸素分圧)への依存性を評価した

YPD培地を用いて培養した*S.cerevisiae*を分離回収し、pH 3に調整した1 mM NaCl水溶液中に添加した。72時間後、0.20 μmメンブレンフィルターを用いて*S. cerevisiae*を取り除くことで微生物放出物溶液を調製した。この溶液の組成は誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)、イオンクロマトグラフィー(IC)、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、飛行時間型質量分析装置(TOF-MS)、全有機炭素計(TOC)を用いて分析した。pH 6に調整した1mM NaCl水溶液、0.16 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>水溶液、微生物放出物溶液に対してCeNPsを100 mg/Lになるように添加した。各水溶液中でのCeNPsの凝集過程を動的光散乱法(DLS)で測定し、沈降過程を溶液の濁度を測定することにより求めた。各溶液中における粒子のゼータ電位は電気泳動法により測定した。

### 4. 研究成果

#### (1) 酸化鉄ナノ粒子の生成、特性、fブロック元素との反応機構解明

異なるサイズのヘマタイトナノ粒子合成と物性評価  
各サンプルともにヘマタイト(空間群: R3(-)c)の結晶構造に由来するピークが確認された。また生成したhematite largeサンプルと市販のヘマタイトは、類似の半値幅であった。hematite smallのサンプルでは、(104)面や(110)面に帰属されるヘマタイトの特徴的なピークが確認されたが、市販のヘマタイトやhematite largeサンプルよりもブロードなピークであった。

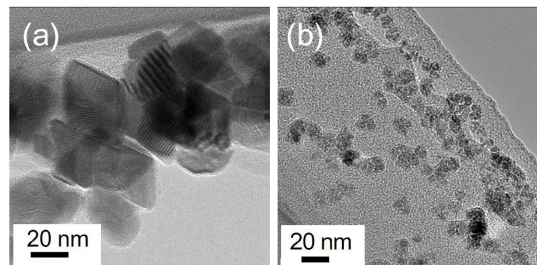


図1 合成したヘマタイトのTEM画像  
各サンプルのTEM観察(図1)より、生成粒子hematite largeとhematite smallの形状はそれぞれ菱面体と球形であった。また100個以上の粒子より各サンプルの平均粒径を求めたところ、hematite largeサンプルで42.5 ± 7.9 nm、hematite smallサンプルで7.19 ± 1.9 nmであった。さらに各サンプルの比表面積測定(BET)は、hematite largeとhematite smallでそれぞれ37.0 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>、150.05 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>であった。鉄酸化物(密度: 5.3)を40 nmと7 nmの球形と仮定した場合、40 nmで28.30 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>、7 nmで161.73 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>の比表面積である。したがって、XRD、TEM、BETともに妥当な結果が得られたと考えられる。以下より、hematite largeは40 nm、hematite smallは7 nmと略称する。

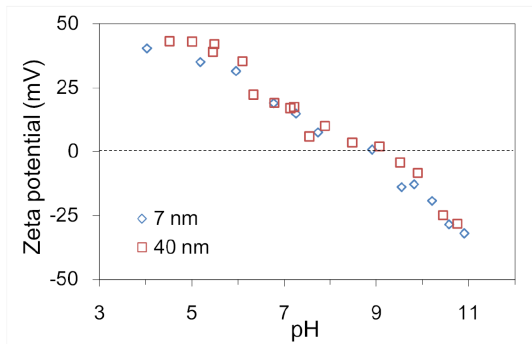


図2 合成したヘマタイトのゼータ電位  
 図2にヘマタイトの表面電位測定の結果を示した。7、40 nmともに低pH側では正に帯電しており、pHが増加するにつれて負に帯電することが分かった。粒子のゼロ点電位(PZC)は、約8.8でありサイズによる表面電位の変化は確認されなかった。この結果は、Maddenらによる7 nmと25 nmのヘマタイトナノ粒子の表面電位測定の結果からも支持されている。

ヘマタイトナノ粒子への希土類元素の吸着挙動

異なるサイズ(7、40 nm)のヘマタイトナノ粒子への希土類元素(La-Lu、Pmを除く)の吸着実験を行った。ICP-MS分析より希土類元素(REE)のヘマタイトナノ粒子への吸着は比較的早く約10時間で飽和吸着になることが明らかになった。十分に吸着平衡にある3日後の吸着量より各サイズにおける分配係数(Kd)を求めた(図3)。

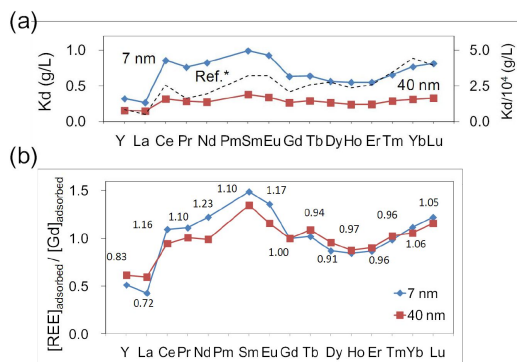


図3 吸着平衡における希土類元素(La-Lu)の7 nmと40 nmヘマタイトへの分配傾向(a)、Gd規格化後の吸着傾向(b)  
 (a)のRef.\*: FeOOHへの希土類元素の分配傾向(Kawabe et al., 1999)  
 (b)での数字: ([REE]/[Gd])<sub>7nm</sub>/([REE]/[Gd])<sub>40nm</sub>

Kd(L g<sup>-1</sup>)すなわち重量で規格化した場合、REEの分配は40 nmよりも7 nmの方が多し事が分かる。これは、REEがヘマタイト粒子表面への吸着している事を示唆しており、40 nmと7 nmの比表面積の違い(40 nm: 37.0 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, 7 nm: 150.05 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>)が反映されていると考えられる。また7 nmの分配傾向において、上

に凸のテトラド効果が含まれており、セリウムの正の異常が起きている事が分かる。太田らにより鉄水酸化物へのREEの吸着実験でも同様のテトラド効果を含む傾向が報告されており、その際に元素分配に伴うテトラド効果は以下の式で表せられることが分かっている(Kawabe et al., 1999)。

$$\log K_d = \frac{\{\Delta G_{f, \text{反応物}} - \Delta G_{f, \text{生成物}}\}}{2.303RT} \approx \frac{\{\Delta H_{f, \text{反応物}} - \Delta H_{f, \text{生成物}}\}}{2.303RT}$$

この式より分配傾向は、生成物と反応物のテトラド効果の大きさの違いが反映されていることが分かる。テトラド効果はf電子の電子反発によって生成しており、この電子反発は共有結合性の結合を作り電子雲を拡大することによって小さくなる。以上より、REEは水和状態よりも共有結合的にヘマタイトに吸着していることが示唆される。また、溶液中に炭酸イオンが存在する場合、REEは炭酸イオンと錯体を形成するためテトラド効果が弱まる事が報告されている。したがって、実際に天然土壌での分配挙動を予測するには地下水中の共存イオンの影響も評価することが重要である。

また希土類元素は、ランタノイド収縮によりLa-Ndでは9配位、Nd-Tbでは8-9配位、Tb-Luでは8配位の水和数をとる(Habenschuss and Spedding, 1980)。重希土類は比較的不安定であり優先的に取り込まれる事が予想されるが、図3に示すように軽・中希土類での優先的な取り込まれるという異なる結果を得た。さらに10 nm以下の粒径の粒子では、軽・中希土類の優先的な取り込みが40 nmよりも1.10-1.23倍大きくなる事が明らかになった。

pHをパラメータとした異なるサイズ(7、40 nm)のヘマタイトナノ粒子に対する希土類元素の吸着解明

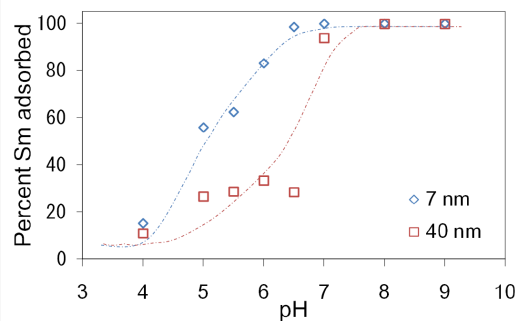


図4 ヘマタイトに対する中希土類元素吸着のpH依存性

図4にサイズの異なるヘマタイト(7、40 nm)に対するSm吸着のpH依存性を示した。

低 pH では約 10% の Sm が吸着され、pH が上昇するにつれて吸着率が増加することが分かる。7、40 nm のヘマタイトともに、吸着量は pH 7 では最大の吸着率を示している。これは、ヘマタイト粒子表面のプロトンが pH の上昇により解離し、吸着サイトが増えたためだと考えられる。実際に図 2 に示した表面電位測定でも、pH が上昇するにつれて粒子が負に帯電することが実験的に明らかになっており、吸着率との傾向も類似している。また中性 pH 付近において 7 nm のヘマタイトは、40 nm のヘマタイトよりも高い吸着率を示している(図 4)。

Sm が 50% 吸着している pH は、7、40 nm でそれぞれ約 pH 5、6 でありサイズが小さくなるにつれて低 pH でも高い吸着率をとることがわかる。10 nm 以下のヘマタイト粒子に対する  $\text{Cu}^{2+}$  や  $\text{Pb}^{2+}$  の吸着実験で類似の報告が行われている(Madden et al., 2006; Barton et al., 2011)。一般的に 10 nm 以下の粒子表面は、反応性が高い配位不飽和なカチオンがバルクサンプルよりも多く存在することが知られている(Knozinger, 2000)。したがって、7 nm のヘマタイト粒子では配位不飽和な吸着サイトが多く存在するため pH の影響を受けやすく Sm 吸着量を変化させたと考えられる。以上の結果をまとめると、7 nm のヘマタイトナノ粒子は配位不飽和なサイトが増加しており、バルクサンプルと吸着量や分配傾向が異なることがわかる。さらに配位不飽和な吸着サイトは、軽・中希土類を選択的に吸着している可能性が示唆された。

## (2) 微生物との相互作用に関する実験

CeNPs を添加していない系 (pH=3~7) での溶液分析から *S. cerevisiae* は細胞外にリン酸、有機リン化合物、種々の有機物、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  を放出することが確認され、その放出量と死細胞量に相関があった。CeNPs を添加した系と比較するとナノ粒子による毒性はすべての pH において見られなかったが、放出される有機物の種類と放出量に変化が見られた。PMF 分析の結果から代謝過程に関わる Eno2p の発現量の増加が見られたことから、ナノ粒子は微生物の代謝に影響を与える可能性が示唆された。また、細胞外放出物中のリンの CeNPs に対する吸着はリン酸のみの系に比べて促進される結果となり、これは有機物の CeNPs への吸着量と相関があった。このことより微生物の放出物がナノ粒子の表面化学状態に変化を与え、移行に影響を与えることが考えられる。以上より、ナノ粒子と微生物は相互に影響を与え合うため、総合的に研究を行うことが地圏環境における元素分配挙動を正確に理解するために必要である。

微生物放出物溶液に対して各種分析を行った結果、 $[\text{PO}_4] = 0.16 \pm 0.02 \text{ mM}$ 、 $[\text{DOM}] = 64 \pm 1.9 \text{ mg/L}$  (DOM; dissolved organic Matter)  $[\text{Na}^+] = 1.0 \text{ mM}$ 、 $[\text{K}^+] = 0.49 \pm 0.03 \text{ mM}$  含まれていることが分かった。DOM は少な

くとも 9 種類の主要な成分を含み、それらはカルボキシ基やアミノ基、芳香環を持つ分子量 1000 以下の分子であることが分かった。各水溶液中における CeNPs の凝集過程について分析したところ、1 mM NaCl 水溶液中に比べ、他の溶液中では CeNPs の凝集が抑制された。沈降実験の結果からも 1 mM NaCl 水溶液中に比べ、他の溶液では沈降速度が遅く DLS の結果と一致した。リン酸水溶液中の CeNPs のゼータ電位は 40 mV と 1 mM NaCl 水溶液中に比べ大きく減少しており、静電反発により分散性が向上したと考えられる。一方、微生物放出物溶液中の CeNPs のゼータ電位はほぼ 0 mV であった。このことから有機物の吸着により CeNPs の周りに立体斥力が形成され、凝集を抑制したと考えられる。立体斥力の形成による分散性の向上は地下水の組成に依存しないため微生物由来化学種はナノ粒子を介した有害元素の移行を促進する可能性がある。

## 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)

A.P. Deditius, S. Utsunomiya, P. Sanchez-Alvaro, M. Reich, R. Ewing, & S. Kesler, Constraints on Hf and Zr mobility in high-sulfidation epithermal systems: Formation of kosnarite,  $\text{KZr}_2(\text{PO}_4)_3$ , in the Chaquicocha gold deposit, Yanacocha district, Peru *Mineralium Deposita*, accepted.

T. Ohnuki, F. Sakamoto, S. Yamasaki, H. Shiotsu, S. Utsunomiya, N. Watanabe, T. Kozaki, Effect of minerals on accumulation of Cs by fungus *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Environmental Radioactivity*, accepted.

A. P. Deditius, F. Skomurski, S. Utsunomiya & R. C. Ewing, Role of vein-phases in nanoscale sequestration of U, Nb, Ti, and Pb during the alteration of pyrochlore. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **150** (2015) 226-252.

S. Masaki, H. Shiotsu, F. Sakamoto, T. Ohnuki & S. Utsunomiya, Effects of  $\text{CeO}_2$  nanoparticles on microbial metabolism. *Chemical Geology*, **391** (2015) 33-41.

A.R. Parent, T. Nakazono, S. Lin, S. Utsunomiya & K. Sakai, Mechanisms of water oxidation by non-heme iron catalysts when driven with sodium periodate. *Dalton Transactions* **43** (2014) 12501-12513.

A. P. Deditius, M. Reich, S. E. Kesler, S. Utsunomiya, S. L. Chrissyoulis, J. Walshe, R. C. Ewing, The coupled geochemistry of Au and As in pyrite from hydrothermal ore deposits. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **140** (2014) 644-670.

M. Jiang, Y. Nakamatsu, K.A. Jensen & S. Utsunomiya, Multi-scale analysis of the

occurrence of Pb, Cr and Mn in the NIST standards: Urban dust (SRM1649a) and indoor dust (SRM2584). *Atmospheric Environment* **82** (2014) 364-374.

E. Kamiishi and S. Utsunomiya, Nano-scale reaction processes at the interface between apatite and aqueous lead. *Chemical Geology* **340** (2013) 121-130.

M. Jiang, T. Ohnuki, S. Yamazaki, K. Tanaka & S. Utsunomiya, Adsorption of ytterbium onto *Saccharomyces cerevisiae* fungal cells - A pH-dependent contribution of phosphoryl functional group. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **295** (2013) 2283-2287.

C. L. Ciobanu, N. J. Cook, S. Utsunomiya, M. Kogagwa, L. Green, S. Gilbert & B. Wade, Gold-telluride nanoparticles revealed in arsenic-free pyrite. *American Mineralogist*, **97** (2012) 1515-1518.

M. Jiang, T. Ohnuki, K. Tanaka, N. Kozai, E. Kamiishi, & S. Utsunomiya, Post-adsorption process of Yb phosphate nano-particle formation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **93** (2012) 30-46.

M. Kogawa, E.B. Watson, R.C. Ewing, & S. Utsunomiya. Pb in zircon at the atomic-scale. *American Mineralogist*, **97** (2012) 1094-1102.

〔雑誌論文〕(計 12 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
宇都宮 聡 (九州大学)

研究者番号：40452791

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：