

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658062

研究課題名(和文) ナノ銀粒子の原子レベルの局所構造解析に基づく植物・小動物への移行特性の本質的理解

研究課題名(英文) Molecular speciation of silver nanoparticle for elucidating bioavailability to plants and macrofauna

研究代表者

橋本 洋平 (Hashimoto, Yohey)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80436899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：日用品に含まれるナノ銀は、洗濯や入浴などの日常生活で容易に溶出して下水に流出するといわれる。銀化合物全般については、ナノ粒子に限らず土壤中での挙動がほとんど明らかにされていない。そのため、製造されたナノ銀が環境中に放出され、土壌や水系での挙動と運命、それらの生物・生態系への影響という一連の過程での網羅的な研究が必要であるが、特に出発点である土壌でのナノ銀の挙動解明が最も重要な課題である。本研究により、土壌の酸化還元状態によって銀イオンおよびナノ銀の挙動に違いがみられること、黒ボク土の方が灰色低地土よりも、銀の吸着量が多いこと、ナノ銀粒子は畑地のような酸化条件では変化しにくいことが分かった。

研究成果の概要(英文)：Silver nanoparticles (AgNP) have been incorporated into various products such as sock and cloth. AgNP in the products can be washed out via laundry and bathing activities and accumulates eventually in sewage sludge. Environmental behaviors of silver and AgNP remain largely unknown, and investigation of silver compounds in soils is key to elucidating environmental fate and toxicity of silver. Our study found that i) solubility of silver compounds and AgNP are dependent on soil's redox potential, ii) Andic soils can retain silver more than lowland gley soils, and iii) AgNP remains persistent in oxic soil conditions.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・植物栄養学・土壌学

キーワード：銀 土壌汚染 ナノマテリアル

1. 研究開始当初の背景

日用品に含まれるナノ銀は、洗濯や入浴などの日常生活で容易に溶出して下水に流出するといわれる。流出したナノ銀の90%が下水汚泥中に存在しているとの報告もある。汚泥の約15%が肥料として最終的に農地還元されていることや(Blaser2008)、汚泥の農地還元は増加する傾向にあり、それに伴ってナノ銀が自然環境中に戻される量は今後も増加すると予想される。このような状況下で、ナノ銀の環境中での挙動や生態系の影響評価が重要になるが、関連研究は見当たらない。銀化合物全般については、ナノ粒子に限らず土壤中での挙動がほとんど明らかにされていない。そのため、製造されたナノ銀が環境中に放出され、土壌や水系での挙動と運命、それらの生物・生態系への影響という一連の過程での網羅的な研究が必要であるが、特に出発点である土壌でのナノ銀の挙動解明が最も重要な課題である。

これまでの研究において、銀は土壌中の酸化鉄や、腐植に含まれる硫黄と結合しやすいことが分かっている。特に土壌中の硫黄は、土壌の酸化還元電位(Eh)が低下すると、銀と結合する反応が進む。また、溶液系の実験によって、ナノ銀粒子が好気・嫌気的条件下で異なる溶解性を示したことが報告されている。これらのことから、畑地のような酸化状態の土壌と、水田のような還元状態の土壌で、銀の挙動に違いがみられる可能性があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、酸化条件(畑地の不飽和水分状態)ならびに還元条件(水田の飽和水分状態)の土壌における、ナノ銀粒子と銀化合物によって供試された銀の溶解性および化学状態の違いを明らかにすることである。また、土壌に対する銀の吸着挙動について、吸着等温線を作成し評価した。

3. 研究の方法

(1) 土壌の酸化還元電位の違いによる銀の溶出挙動

土壌(黒ボク土)にナノ銀または硝酸銀溶液を添加して培養を行い、定期的に採取した土壌中の銀の溶解性を、溶出試験によって追跡する実験を行った。土壌の水分状態を調整し、酸化ならびに還元状態の2条件を設定した。

酸化条件の土壌は、風乾細土20gを50mL容ポリプロピレンチューブにとり、土壌の間隙率の70%に相当する硝酸銀溶液およびナノ銀溶液を添加して調整した。還元条件の土壌は、風乾細土400gを1L容ポットにとり、土壌の間隙率の130%に相当する硝酸銀溶液およびナノ銀溶液を添加して調整した。添加時に各ポットの土壌に酸化還元電極(IM-32P, 東亜ディーケーケー)を挿入し、定期的に酸化還元電位(Eh)を測定した。さらに、定期的

にpH電極(F-73, HORIBA)を挿入して、土壌のpHの測定も行った。

ナノ銀および硝酸銀溶液の濃度は、酸化条件と還元条件の土壌の銀濃度が等しくなるように設定した。還元条件の土壌については、定期的にEhの測定を実施した。添加から一定期間経過後に土壌を採取し、水抽出試験を実施した。銀の濃度(溶出量)は、フレイム原子吸光分析によって定量した。

(2) 土壌への銀の吸着等温線の作成

黒ボク土ならびに灰色低地土の風乾し、0.10gを50mL容ポリプロピレンチューブにとり、バックグラウンド溶液として0.1M硝酸ナトリウム溶液20mLを加えて、24時間振とうした。バックグラウンド溶液は、作製時に0.01M水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを 6 ± 0.05 に調整した。振とう後に懸濁液のpHを測定し、0.01M硝酸または0.01M水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを 6 ± 0.1 に調整した。銀濃度を10段階に設けて、固液比1:300となるように添加量を調整し、銀の吸着実験を実施した。また、対照区として硝酸銀溶液を添加しないものも用意した。24時間振とう後に懸濁液のpHを測定し、記録した。その後、8分間の遠心分離(8000rpm)を行い、上澄み液をメンブレンフィルター(0.45 μ m)でろ過した。原子吸光度法によって銀の平衡濃度を測定した。この値から銀の吸着量を求め、Langmuir型吸着等温線を作成した。

(3) 銀の化学状態分析

上述した実験において、開始後30日後の土壌中の銀の化学状態を放射光源X線分光法によって分析した。土壌は分析まで凍結保存した。SPRING-8(兵庫県)のBL01B1にて、Ag-K端のX線吸収スペクトルを測定した。同様に標準試料として、各種銀化合物や粘土鉱物への吸着態も併せて測定した。

4. 研究成果

(1) 土壌の酸化還元電位の違いによる銀の溶出挙動

ナノ銀および硝酸銀添加土壌からの銀の溶出量は、還元条件よりも酸化条件の方が多いたことが確認された(図1, 2)。ナノ銀を添加した場合において、培養から30日後の還元条件の土壌からは銀の溶出が検出されなかったのに対し、酸化条件では0.016mg L⁻¹の銀の溶出が確認された。どちらの条件でも、培養開始から1時間後の銀の溶出量と比較すると減少しており、時間の経過に伴って銀が土壌の構成成分(粘土鉱物や土壌有機物)に吸着されたことが示唆される。硝酸銀を添加した場合も、20日後の銀の溶出量が、還元条件の土壌では0.22mg L⁻¹、酸化条件では1.66mg L⁻¹となり、日数経過によって銀の溶出量が減少していた。

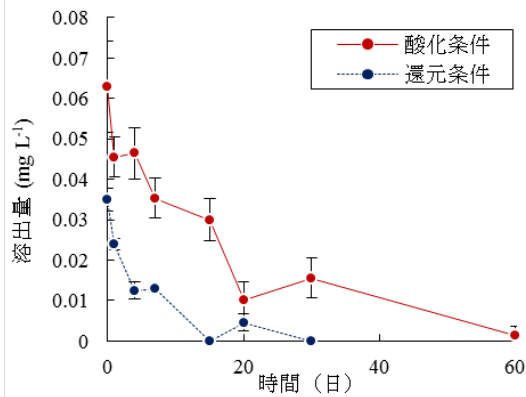


図 1. ナノ銀を添加した土壌の銀の溶出量の経時的変化

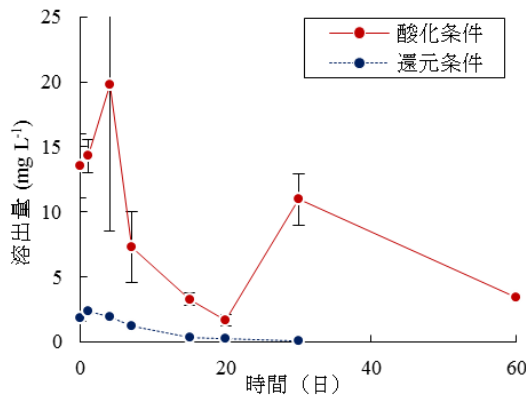


図 2. 硝酸銀を添加した土壌の銀の溶出量の経時的変化

ナノ銀および硝酸銀を添加した土壌を採取したときの Eh と、銀の溶出量との関係性を図 3 および図 4 にそれぞれ示した。ナノ銀を添加した場合においては、Eh と銀の溶出量に高い正の相関が得られた。硝酸銀を添加した還元条件の土壌は、Eh が 400 mV 付近になると銀の溶出量が大きく減少していることが判明した。これは、400 mV 付近で銀の化学形態が変化したためであると考えられる。これらのことから、土壌の Eh の低下に伴って銀の溶出量は低下することが明らかになったが、ナノ銀を添加した場合と硝酸銀を添加した場合には、Eh の低下速度や下限値が異なったことから、銀の溶出量は化合物形態によって変化することが示唆された。

土壌に添加した銀は、時間の経過に伴って溶出量が減少することが確認された。銀の溶出量は、還元条件よりも酸化条件の方が多いことから、土壌中でのナノ銀および銀イオンの溶解性と化学状態を決定する因子としては、土壌の酸化還元電位が密接に関係していることが示唆された。

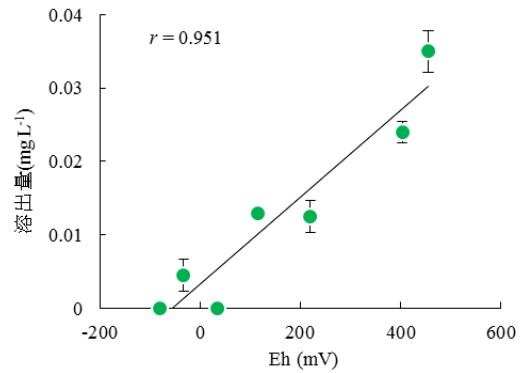


図 3. ナノ銀添加土壌の Eh と銀の溶出量との関係性

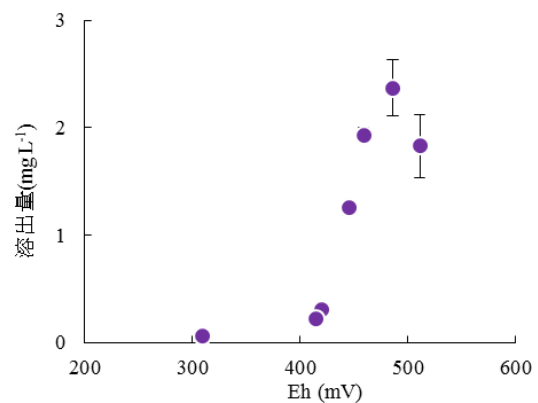


図 4. 硝酸銀添加土壌の Eh と銀の溶出量との関係性

(2) 土壌への銀の吸着等温線の作成

吸着実験後のデータを Langmuir モデルによって回帰し、銀の吸着量を平衡状態にある溶液中の銀濃度の関数で示した(データ省略)。Langmuir の吸着等温線から、最大吸着量および吸着強度を求めた。土壌に対する銀の最大吸着量は、灰色低地土よりも黒ボク土の方が 800 mg kg^{-1} 以上大きいことが判明した。これは、黒ボク土の方が銀の吸着に大きく寄与する鉄や腐植物質の含量が多いためであると考えられる。土壌有機物中でのイオン交換や錯体形成が、銀の吸着に最も寄与することが実際に報告されている(Jacobson et al., 2005)。

(3) 銀の化学状態分析

X 線吸収スペクトルの分析によって、土壌に添加した硝酸銀は、30 日後にはその大部分が別の化学状態に変化していることが確認された。酸化条件では、土壌の層状ケイ酸塩鉱物に吸着した形態、還元条件では銀が層状ケイ酸塩鉱物だけでなく、別の土壌コロイドにも吸着している可能性が示唆されたが、詳

細は明らかにできなかった。ナノ銀を添加した土壌については、酸化条件では 30 日後もその 90%以上がナノ銀のままで存在していることが確認された。還元条件では、一部の銀が硫化銀に変化していることも確認された。

(4) まとめ

本研究では、酸化条件ならびに還元条件（湛水状態）の土壌における、銀化合物とナノ銀粒子によって供試された銀の挙動の違いを明らかにすることを目的とした。

酸化条件と還元条件の結果を比較すると、どちらの土壌においても、還元条件で硝酸銀を添加した場合は培養から 15 日で銀の溶出量が 0.5 mg L^{-1} 以下、ナノ銀を添加した場合は検出限界以下 ($< 0.01 \text{ mg L}^{-1}$) であったのに対し、酸化条件で硝酸銀を添加した場合は培養から 15 日で銀の溶出量が 1.9 mg L^{-1} 以上、ナノ銀を添加した場合は 0.02 mg L^{-1} 以上であり、還元条件よりも酸化条件の方が高い溶出量を示した。これは、土壌中に存在する銀の化学形態の違いが原因であると予想されたが、検討が待たれる。

硝酸銀を添加した還元条件の土壌は、Eh が 400 mV 以下になると銀の溶出量が大きく減少していることが判明した。これは、 400 mV 付近で銀の化学形態が変化したためであると考えられる。ナノ銀を添加した場合においては、Eh と銀の溶出量に高い正の相関が得られた。これらのことから、土壌の Eh の低下に伴って銀の溶出量は低下することが明らかになったが、硝酸銀を添加した場合とナノ銀を添加した場合は、Eh の低下速度や下限値が異なったことから、化合物形態によって銀の溶出量は変化することが示唆された。吸着等温線の作成により、硝酸銀の場合の最大吸着量は、灰色低地土より黒ボク土の方が 800 mg kg^{-1} 以上大きいという結果になったが、これは黒ボク土の方が鉄や腐植の含有量が多いためであると考えられる。

本研究により、土壌の酸化還元状態によって銀イオンおよびナノ銀の挙動に違いがみられること、黒ボク土の方が灰色低地土よりも、銀の吸着量が多いこと、ナノ銀粒子は畑地のような酸化条件では変化しにくいことなどが、本研究の成果として得られた。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Hashimoto, Y., Mitsunobu, S., and Yamaguchi, N. 2013. Transformation of nanosilver in oxidized and reduced soils. American Geophysical Union (12/9-13/2013, San Francisco, USA)

2. Hashimoto, Y. 2013. Chemical speciation and transformation of silver nanoparticles in oxic and anoxic soils. Department seminar at Department of Renewable Resources, University of Alberta (Edmonton, Canada, 12/11/2013)

3. 橋本洋平, 光延聖, 山口紀子. 2013. ナノ銀および銀化合物の土壌中での挙動. 日本土壤肥料学会全国大会 (名古屋大学, 9/11-13/2013)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.tuat.ac.jp/~soilchem/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 洋平 (Hashimoto, Yohey)
東京農工大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: 80436899

(2) 研究分担者

光延 聖 (Mitsunobu, Satoshi)
静岡県立大学・環境科学研究所・助教
研究者番号: 70537951

(3) 連携研究者 なし