An environmental assurance system by catalytic ultrasonic irradiation with functional TiO2 particles

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Shimizu, Nobuaki メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00034736

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.

新規ラジカル生成系と高勾配磁気分離を融合した環境保全システムの構築

（研究課題番号　16310055）

平成 16 年度～18 年度　科学研究費補助金
（基盤研究 (B) (2)）

研 究 成 果 報 告 書

平成 19 年 4 月

研究代表者　清　水　宣　明
（金沢大学環日本海域環境研究センター教授）

金沢大学附属図書館
0800-04417-7

新規ラジカル生成系と高勾配磁気分離を融合した環境保全システムの構築

（研究課題番号　16310055）

平成16年度～18年度　科学研究費補助金
（基盤研究(B)(2)）

研 究 成 果 報 告 書

平成 19年 4月

研究代表者　清 水 宣 明
（金沢大学環日本海域環境研究センター教授）

新規ラジカル生成系と高勾配磁気分離を融合した環境保全システムの構築

研究課題番号　16310055

平成16年度～18年度　科学研究費補助金（基盤研究(B)(2)）

研 究 成 果 報 告 書

研究代表者　　清 水 宣 明（金沢大学環日本海域環境研究センター 教授）

[はしがき]

近年，内分泌撹乱物質（いわゆる環境ホルモン）をはじめとする多くの化学物質の環境中での顕在化が大きな社会問題となっている。これら化学物質の中には生化学的な分解を受けにくいものも多く，水環境中での長期的な残存が懸念されている。これらの有害化学物質の効果的な分解処理方法として，光触媒として知られる二酸化チタンを用いたラジカル反応を活用する方法が注目されている。二酸化チタンは，波長380 nm以下の紫外光照射によってその表面に非常に強力な酸化力を有するラジカル種を生成することから，ヒトの健康に有害な各種化学物質の有効な分解処理技術として様々な分野で注目されている。これら光触媒技術の有用性は内分泌撹乱物質（環境ホルモン）などの分解処理のみならず，医療設備や公衆衛生設備などの抗菌・殺菌処理に関しても数多く報告されている。光触媒法は細菌・ウイルスなどを直接分解し，無害な無機物にまで分解可能である。またそのラジカルを生成するためのエネルギーは太陽光から得ることができるため，クリーンな技術として脱臭，防汚などの分野でも幅広く応用されている。

一方，有害化学物質に汚染された水の新規の処理法として超音波化学（ソノケミストリー）を用いた手法も数多く研究されており，分解処理が困難であった毒性の高い化学物質も分解できることが報告されている。この二つの処理方法の共通点は，分解機構にヒドロキシルラジカル（OHラジカル）が関与していることである。

近年我々は水中で二酸化チタン微粒子に超音波を照射すると，極めて高濃度のヒドロキシルラジカル（OH ラジカル）が生成する事を見出し，強力な酸化反応による有害化学物質の分解処理及び有害微生物の殺菌作用について検討を開始した。この技術は従来の光触媒反応と比較して，水相中への超音波浸透距離が大きい等多くの利点を有しており，画期的な新技術へと発展する可能性がある。ここでは以下の点に焦点を絞り研究を遂行した。

① OHラジカル生成メカニズムの解析
② 有害物質を特異的に捕捉する生体分子（抗体，DNAアプタマー等）を表面に固定化した磁性二酸化チタン微粒子の開発
③ 二酸化チタン・超音波触媒法による難分解性有害化学物質および有害微生物分解メカニズムの解析
④ 流通管型反応器を用いた環境保全システムの構築

本研究の遂行にあたり，Dadjour, M.F.博士（金沢大学ベンチャービジネスラボラトリー），高木圭子博士（金沢大学自然計測応用研究センター）の各位に多大のご支援をいただいた。ここに深く感謝の意を表します。

［研究組織］

研究代表者：　清 水 宣 明　（金沢大学環日本海域環境研究センター教授）

研究分担者：　山 田 外 史　（金沢大学環日本海域環境研究センター教授）

荻 野 千 秋　（金沢大学大学院自然科学研究科助教）

［研究経費］

平成16年度	７，７００　千円
平成17年度	３，８００　千円
平成18年度	３，８００　千円
計	１５，３００　千円

［研究発表］（＊印は本報告書に内容全文を掲載）

学会誌等（原著論文）

(1) Ogino, C., Dadjour, M.F., Iida, Y., Shimizu, N. Decolorization of methylene blue in aqueous suspensions of titanium peroxide. (Submitted)

(2)* Shimizu, N., Ogino, C., Dadjour, M.F., Murata, T. Sonocatalytic degradation of methylene blue with TiO_2 pellets in water. *Ultrason. Sonochem.*, 14, 184-190, 2007.

(3)* Ogino, C., Dadjour, M.F., Takaki, K., Shimizu, N. Enhancement of sonocatalytic cell lysis of *Escherichia coli* in the presence of TiO_2. *Biochem. Eng. J.*, 32, 100-105, 2006.

(4)* Dadjour, M.F., Ogino, C., Matsumura, S., Nakamura, S., Shimizu, N. Disinfection of *Legionella pneumophila* by ultrasonic treatment with TiO_2. *Water Res.*, 40(6), 1137-1142, 2006.

(5)* Dadjour, M.F., Ogino, C., Matsumura, S., Shimizu, N. Kinetics of disinfection of *Escherichia coli* by catalytic ultrasonic irradiation with TiO_2. *Biochem. Eng. J.* 25, 243-248, 2005.

（総説および報告書）

(1) 荻野 千秋, Mizanur, M.R., 清水 宣明　二酸化チタン・超音波触媒法を応用した有害微生物殺菌システム. 超音波TECHNO, 印刷中.

(2) 清水 宣明，荻野 千秋，藤平 敦司　二酸化チタン・超音波触媒法による OH ラジカルの生成と溶存希ガスの促進効果．超音波 TECHNO，印刷中．

(3) 清水 宣明，荻野 千秋　二酸化チタン・超音波触媒法の環境浄化，殺菌への応用．空気清浄，印刷中．

(4) 山田 外史，橋本 松進，清水 宣明，柿川 真紀子，岩原 正吉　超磁歪アクチュエータ駆動によるキャビテーションに基づく水酸基ラジカル発生．リニアドライブ研究会資料，97-101，2006．

(5) 清水 宣明，大谷 吉生　バイオとナノの融合技術とその新展開．　平成 17 年度重点研究経費研究成果報告書(研究抄録)，35-38，2006．

(6) 清水 宣明，荻野 千秋，Farshbaf, D.M.　二酸化チタン・超音波法による微生物殺菌メカニズムの解明と水浄化システムへの応用．金沢大学ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー年報 平成 16～17 年度，19，2006．

(7) 清水 宣明　機能性バイオ融合ナノ粒子の創製とその組織ターゲティング．　平成 17 年度重点研究「バイオとナノの融合技術とその新展開」研究報告，7-19，2006．

(8) 清水 宣明，荻野 千秋，M.F. Dadjour　二酸化チタン・超音波照射による大腸菌殺菌メカニズム．化学工業，56(2)，106-111，2005．

(9)* 清水 宣明，荻野 千秋，M.F. Dadjour　二酸化チタンへの超音波照射によって発生するラジカルの応用．マテリアルインテグレーション，18(3)，31-36，2005．

(10) 清水 宣明，大谷 吉生　バイオとナノの融合技術とその新展開．　平成 16 年度重点研究経費研究成果報告書(研究抄録)，31-34，2005．

(11) 清水 宣明，Farshbaf, D.M.　有害微生物殺菌方法の開発．　平成 16 年度 VBL 研究プロジェクト研究成果報告書，59-63，2005．

(12) 清水 宣明　機能性バイオ融合ナノ粒子の創製とその組織ターゲティング．　平成 16 年度重点研究「バイオとナノの融合技術とその新展開」研究報告，11-22，2005．

[出版物]（著書）

(1)* 清水 宣明，荻野 千秋，Dadjour, M.F.　超音波と二酸化チタンを用いた有害微生物の殺菌．超音波利用技術集成 - ソノケミストリーの環境・医療応用から最新のセンシング動向まで -，NTS，東京，2005，pp. 115-125．

(2) Dadjour, M.F., Ogino, C., Matsumura, S., Nakamura, S., Shimizu, N.　Improvement of ultrasonic disinfection power using TiO_2 photocatalyst.　In: G.R. ter Haar, I. Rivens (Eds), 4th International Symposium on Therapeutic Ultrasound, American Inst. Phys., NY, 2005, pp. 275-277.

［学会発表］

(1) 清水宣明，高木圭子，荻野千秋，モハマド ミザヌル ラハマン：光触媒と超音波化学のカップリングによる殺菌技術． 第41回日本水環境学会年会講演集，p.289,大阪 (2007)

(2) Mizanur, R.M., Ogino, C., Shimizu, N.： Sonodynamic sterilization of microbial cells at the surface of TiO_2. 第15回ソノケミストリー討論会講演論文集, pp.103-104, 金沢 (2006・10)

(3) 藤平敦司，崎山和亨，荻野千秋，清水宣明： 二酸化チタン・超音波による OH ラジカルの生成と溶存アルゴンの促進効果． 第15回ソノケミストリー討論会講演論文集, pp.99-100, 金沢 (2006・10)

(4) 崎山和亨，藤平敦司，荻野千秋，高木圭子，清水宣明： 酸化チタンへの超音波照射による過酸化水素生成機構の解析．第15回ソノケミストリー討論会講演論文集, pp.87-88, 金沢 (2006・10)

(5) 清水宣明：光触媒・超音波化学のカップリングとその環境浄化・医療への応用．「高機能光触媒の創製と応用技術研究会」第20回講演会 講演要旨集 （主催：高機能光触媒の創製と応用技術研究会，招待講演），大阪 (2005・10)

(6) Farshbaf M.，荻野千秋，清水宣明： 有害微生物の超音波殺菌に対する二酸化チタンの増強効果．第14回ソノケミストリー討論会講演論文集, pp.13-14, 豊橋 (2005・10)

(7) 藤平敦司，荻野千秋，Farshbaf M.，清水宣明：二酸化チタン/超音波法による OH ラジカルの生成と溶存アルゴンの促進効果．第14回ソノケミストリー討論会講演論文集，pp.91-93，豊橋 (2005・10)

(8) 清水宣明：機能性バイオ融合ナノ粒子の応用．第5回バイオサイエンスシンポジウム 「生体機能と生体の物理化学計測」，金沢(2005・3)

(9) 清水宣明： 新規ラジカル生成・測定系の開発とその環境保全・医療への応用．第4回ライフケア産業振興フォーラム in 金沢（主催：北陸ものづくり創生協議会），金沢 (2004・2)

(10) Farshbaf, M. D., Ogino, C., Matsumura, S., Nakamura, S. & Shimizu, N.: Cell disinfection by ultrasonic irradiation with TiO2 photocatalyst. Proceedings of 10th APCChE, 1P-06-020, Kitakyu-shu, Japan (2004)

(11) Farshbaf, M. D., Ogino, C., Matsumura, S., Nakamura, S. & Shimizu, N.: Improvement of ultrasonic disinfection power by using TiO2 photocatalyst. Proceedings of 4th International Symposium on Therapeutic Ultrasound, p.165, Kyoto, Japan (2004)

(12) 松村享，Farshbaf, D.M.，吉川文恵，荻野千秋，清水宣明： 二酸化チタン粒子懸濁系への超音波照射とレジオネラ殺菌増強効果． 第13回ソノケミストリー討論会講演論文集，pp.38-40，東京 (2004)

(13) 舩越正人，Farshbaf，D.M.，吉川文恵，荻野千秋，清水宣明： 二酸化チタン懸濁水溶液への超音波照射と OH ラジカル生成. 第 13 回ソノケミストリー討論会講演論文集，pp.94-96，東京（2004）
(14) Farshbaf Mahmoud，松村 享，荻野千秋，清水宣明： Disinfection of Legionella by sonocatalytic irradiation with TiO2 photocatalyst. 化学工学会第 69 年会，大阪 (2004)
(15) Farshbaf M.，Ogino C.，Matsumura S. & Shimizu N.： Application of sonocatalytic system in the cell disinfection process. 第 2 回最先端バイオテクノロジー公開セミナー，神戸 (2004)
(16) 清水宣明：超音波による二酸化チタン表面での OH ラジカルの生成とその環境浄化・医療への応用. 講演会「光触媒反応と超音波化学反応のカップリングの可能性」，東京（2004）

［研究成果の概要］

1．二酸化チタンへの超音波照射と OH ラジカルの生成

1．1 OH ラジカルの簡易定量法

反応性の高い OH ラジカルは，その生存時間が数十ナノ秒と極端に短いため直接定量する事が困難である。ラジカルの研究分野ではスピントラップ剤である 5,5-ジメチル-1-ピロリン-N-オキシド（DMPO）を用いて OH ラジカルを測定する ESR スピントラップ法が一般的であるが，本研究ではより簡便な測定法としてサリチル酸を用いた誘導化反応による OH ラジカル定量法を用いた。これは，サリチル酸への OH ラジカル付加反応により誘導体として 2,3-ジヒドロキシ安息香酸（2,3-DHBA）と 2,5-ジヒドロキシ安息香酸（2,5-DHBA）が生成することを利用する（図１）。これら両生成物は電気化学的に活性な物質であり，高速液体クロマトグラフィー（HPLC）と電気化学検出器（ECD）により容易に定量できる。またこれら誘導体は非選択的に生成していると考えられるため，両者の総和から OH ラジカルの生成量を評価した。

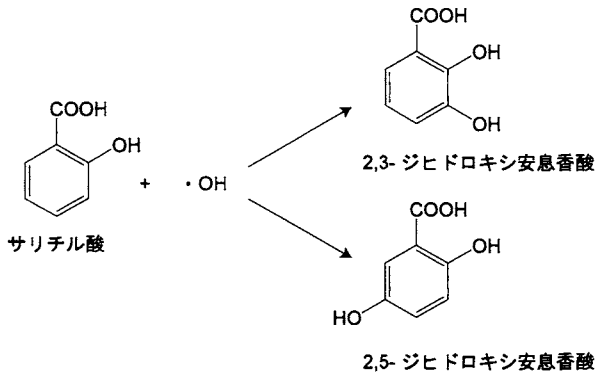

図１ サリチル酸への OH ラジカル求核付加反応

1．2　OH ラジカルの生成

水溶液中で二酸化チタン粒子に超音波を照射すると OH ラジカルが生成されることを以下の実験から確かめた。サリチル酸ナトリウム水溶液（10μM, 2ml）と二酸化チタン粒子（2g；粒径 2mm, ルチル型）を反応容器に入れ，これを浴槽型の超音波照射器（42kHz）の中央部に固定した。超音波照射に伴う DHBA 濃度の経時変化を図２に示す。二酸化チタン粒子を添加しない場合，６０分間の超音波照射によって生ずる DHBA の濃度上昇は微少であったが，二酸化チタンを添加すると顕著な濃度上昇が認められた。照射後２０分以降 DHBA の生成速度の減少が見られるが，これは高濃度の OH ラジカルが生成した DHBA を攻撃・分解するため，見かけ上生成速度の減少が起こった可能性がある。図には示していないが，超音波照射 45 分および 60 分後には DHBA 濃度の有意な減少が観察された。また DHBA の生成が二酸化チタン粒子において特異的であるか否かを検討するため，光触媒活性を有しない同一形状の酸化アルミニウム粒子（粒径 2mm）を比較対照として同様の実験を行った。その結果，酸化アルミニウム粒子に超音波を照射した場合においても DHBA の生成量は対照群と比較して有意に多いが，二酸化チタン粒子添加群は酸化アルミニウム粒子添加群に比べて約３倍の DHBA が生成されたことから二酸化チタンの特異性が示された。酸化アルミニウム粒子の添加によっても OH ラジカルの生成が促進されたことは，固形物の添加により超音波キャビテーション気泡の生成が増大する可能性を示唆するものであり，今後の研究課題である。以上の実験結果は，光触媒として知られている二酸化チタンに超音波を照射する事によって極めて効率的に OH ラジカルを生成できることを示すものである。

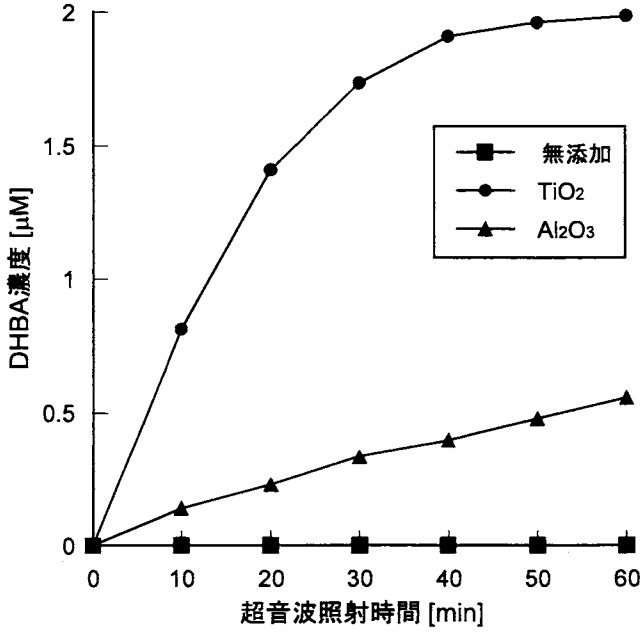

図２　二酸化チタン・超音波触媒法による DHBA 濃度の経時変化

1．3　OH ラジカル捕捉剤の添加効果

二酸化チタン・超音波法で示された DHBA の生成過程が OH ラジカルに依存する反応であることを確認するため，OH ラジカルの捕捉剤を添加し超音波照射後の DHBA 生成量を比較検討した（図３）。ここでは，これまで OH ラジカル捕捉剤としての作用が報告されているジメチルスルフォキシド(DMSO)，メチルアルコール(MeOH)およびマンニトールの 3 種類について検討した。いずれの捕捉剤の添加によっても DHBA の生成量が抑制されたことから，この DHBA 生成はサリチル酸への OH ラジカル求核反応によるものと考えられる。

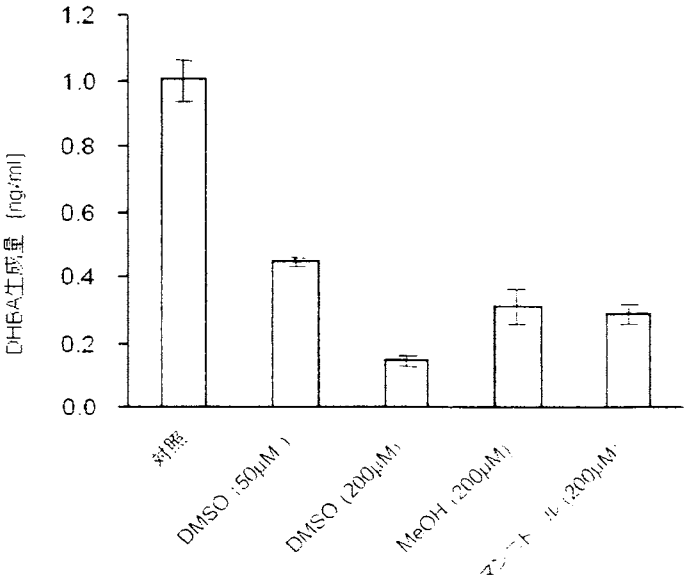

図３　DHBA 生成におよぼすラジカル捕捉剤の抑制効果

対照：捕捉剤無添加，DMSO：ジメチルスルフォキシド，
MeOH：メチルアルコール

1．4　脱気操作が OH ラジカル生成に及ぼす影響

脱気操作により溶存ガス濃度を減少させた状態で超音波照射をした場合，OH ラジカル生成にどのような影響が生ずるかを検討した。溶液と TiO_2 粒子を反応容器へ入れ，脱気（0～94 kPa，5 min）を行った。その後脱気状態を保ったまま超音波照射（25～36 kHz，200 W，30 min）を行い，試料を HPLC/ECD にて分析した。脱気の引圧を変化させることで溶存ガス量による OH ラジカル生成への影響を検討した。

脱気状態での超音波照射による DHBA 生成量を図４に示す。またそれぞれの引圧での脱気後の溶存酸素（DO）濃度を表１に示す。脱気の引圧が高くなると溶存酸素濃度は減少し，DHBA 生成量も減少した。この結果は脱気によりキャビテーション気泡が生成する際の核と

なる溶存ガスが消失したためと考えられ，溶存ガス量がキャビテーション気泡の生成に大きく影響していることを示唆する。

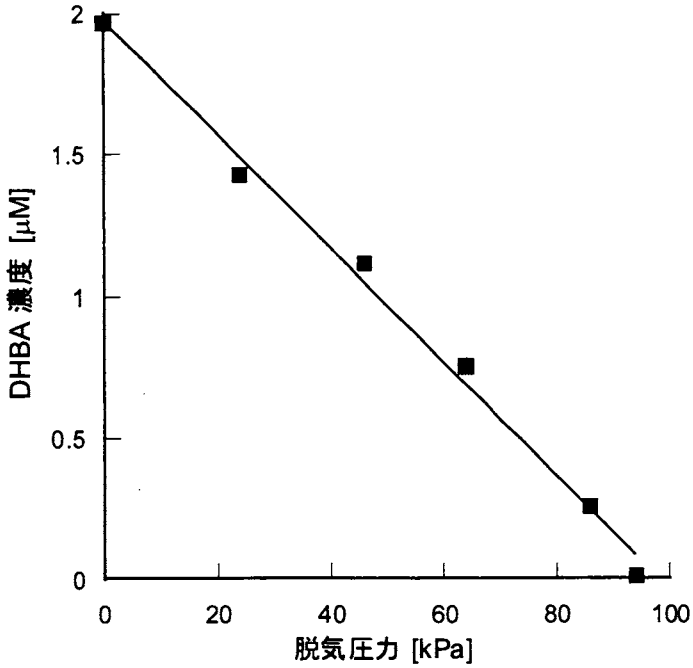

図４　脱気操作による DHBA 生成の抑制効果

表１　脱気に伴う溶存酸素濃度の減少

脱気圧 [kPa]	0	24	46	64	85	94
溶存酸素濃度 [ppm]	8.7	6.3	5.4	3.2	0.4	0.0

脱気時間：5 分

１．５　溶存ガスの種類と DHBA 生成量

希ガスなどを溶存させた溶液に超音波を照射すると，空気溶存の場合と比較してキャビテーション気泡圧壊時の気泡中心温度が高くなることが報告されている。また O_2 や Ar 溶存によって，有機物質の超音波分解が促進されるとの報告もある。したがって，種々のガスを溶存させた状態で超音波照射を行うことで，超音波分解への寄与率が高いと考えられる OH ラジカルの生成にどのような影響を与えるかを検討した。この実験には O_2，N_2，Ar と更に高い溶解度を持つ Xe，Xe の分圧を下げ Ar と同等の溶解度を持つように調整した（Xe/Ne 30/70%（v/v））混合ガスを用いた。

溶液と TiO_2 粒子を反応容器へ入れ，脱気 (94 kPa, 5 min) を行った。その後，ガス (N_2, O_2, Ar, Xe, Xe/Ne) をバブリング後 (80 ml/min, 15 sec)，反応容器内もそれぞれのガス雰囲気に置換した。この反応容器を 20 ℃に調節した恒温槽中に設置し，5 分後に超音波照射 (25～36 kHz, 200 W) を行い，試料を HPLC/ECD にて分析した。また，試料の採取毎に上記の脱気・バブリング操作を行った。

異なる 5 種類のガスを溶存させた溶液へ超音波照射を行い，DHBA 濃度の経時変化を調べた結果を図 5 に示す。O_2 溶存下で超音波を 60 分間照射した場合，N_2 溶存下と比較して約 2 倍の DHBA 濃度が観察された。また Ar と Xe 溶存下では O_2 溶存下よりさらに高濃度の DHBA 生成が見られた。次式に示すように，キャビテーション気泡圧壊時の気泡内温度はモル熱容量比 (γ) に依存して高くなる。したがって，Xe, Ar 溶存下と O_2, N_2 溶存下での DHBA の生成量の差はモル熱容量比の差に起因することが示唆される (表 2)。また Xe と Ar および O_2 と N_2 の差はそれぞれの溶解度の差によるものであると考えられる。溶解度が高いガスほど溶存ガス量が多くなり，キャビテーション気泡生成量が増加すると考えられる。これは Xe の分圧を下げ Ar と同等の溶解度を持つように調整した Xe/Ne (30/70% (v/v)) 混合ガスを用いた場合，Ar と有意な差が見られないことからも示唆される。さらに，ソノルミネッセンスによる光励起や高熱エネルギーによる二酸化チタンの熱励起により OH ラジカル生成量が増加した可能性もあり，さらなる詳細な検討が必要である。

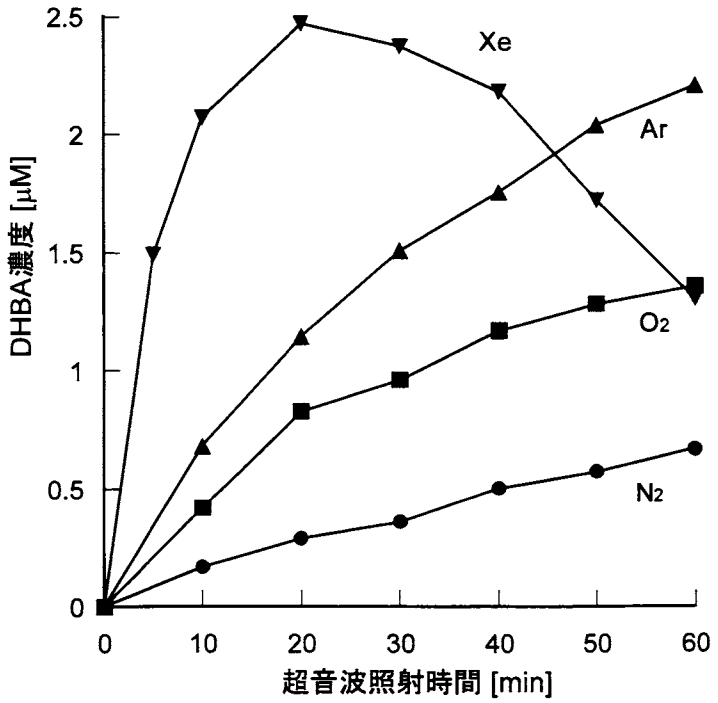

図 5　各種溶存ガス雰囲気下での DHBA 生成の経時変化

$$T_{ad} = T\left(\frac{R_{co}}{R_e}\right)^{3(\gamma-1)}$$

T　：気泡周囲の水温
T_{ad}　：気泡内温度
R_{co}　：圧壊直前の気泡径
R_e　：圧壊直後の気泡径

表２　各種ガスのモル熱容量比（γ）と溶解度

	モル熱容量比，γ	溶解度 ×10^4
O_2	1.40	0.229
N_2	1.40	0.118
Ne	1.64	0.0815
Ar	1.67	0.252
Xe	1.66	0.788

２．　機能性二酸化チタン微粒子の構築と光触媒活性の評価

光触媒の分解効率を上げるためには、比表面積の大きい微粒子状の二酸化チタンを用いることが好ましい。しかし、分解処理後、水相から微粒子を分離・回収することは困難である。この問題の解決法として、磁性をもつ粒子に二酸化チタン層をコーティングすることで、磁場の付加により水相から簡便に分離・回収可能な機能性二酸化チタン微粒子の構築を目指した（図６）。

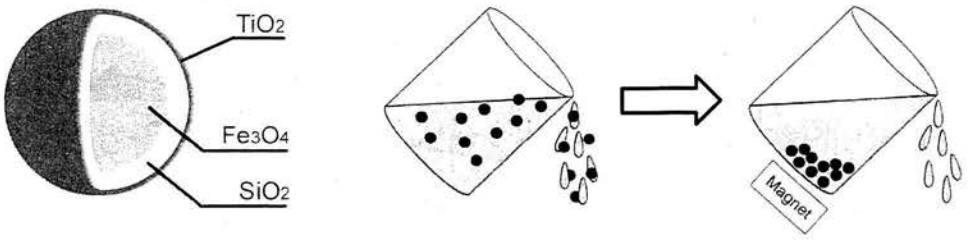

図６　二酸化チタン被服磁性微粒子の構造（左）と磁場による回収

2．1　シリカ被覆マグネタイト微粒子(SF 微粒子)の構築

界面活性剤 Polyoxyethylene(15)cetylether (C-15)を 70 ℃にて溶解させた。撹拌を開始し、Cyclohexene、塩化鉄水溶液を添加することで塩化鉄水溶液をミセル内水相とする逆相ミセルを形成させた。さらにアンモニア水溶液を添加することで Fe_3O_4 微粒子を構築した。反応 15 分後、Tetraetyl Orthosilicate (TEOS)、アンモニア水溶液を添加し、45 分間反応させることで、ゾル・ゲル法にて Fe_3O_4 微粒子に SiO_2 層をコーティングした。遠心分離で洗浄、回収後、窒素雰囲気下で 500 ℃にて焼成し SF 微粒子を構築した。

未焼成の SF 微粒子を TEM にて観察した結果を図 7(左)に示す。Fe_3O_4 微粒子に SiO_2 層がコーティングされていることを確認することができた。粒径はコアの Fe_3O_4 微粒子が約 10 nm で、SiO_2 層を含めると約 50 nm であった。SiO_2 層の厚みは 20 nm 程度であった。

焼成後の SF 微粒子を SEM にて観察した(図 7 (右))。焼成後の微粒子は凝集しており、粒径は約 10 μm から約 150 μm の範囲で様々な大きさの粒子であった。焼成後の粒子の凝集を防ぐには、今後、焼成前に分散剤を添加することや焼成方法などを検討する必要がある。また、微粒子表面には凹凸が多く存在していることが確認できた。

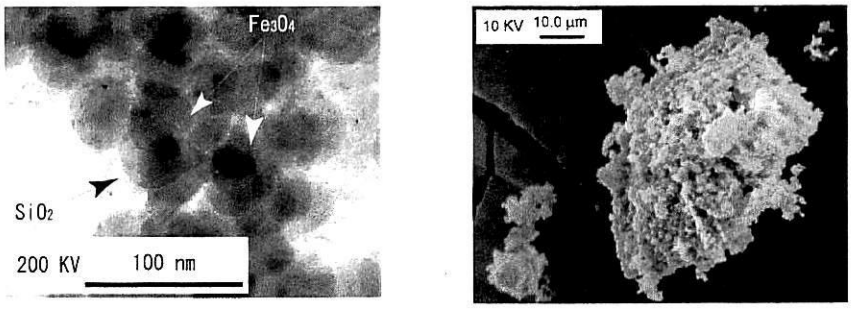

図７　シリカ被覆マグネタイト微粒子の電子顕微鏡写真像

2．2　二酸化チタン-シリカ包括マグネタイト微粒子（TSF 微粒子）の構築

作製した SF 微粒子をエタノールに分散させ、Titanium Tetraisopropoxide (TTIP)、50 vol.%エタノールをゆっくり添加し、2 時間反応させることでゾル・ゲル法にて TiO_2 層を SF 微粒子にコーティングした。遠心分離で回収後、窒素雰囲気下で 500 ℃にて焼成することで TSF 微粒子を作製した。

未焼成の TSF 微粒子を TEM にて撮影した（図８(左)）。これにより、SF 微粒子に TiO_2 層がコーティングされていることを確認することができた。TiO_2 コーティング後の粒径は約 70 nm であった。よって、Ti02 層は 10 nm 程度の厚みでコーティングされていると考えられる。

焼成後の TSF 微粒子を SEM にて撮影した(図８(右))。焼成後の微粒子は SF 微粒子同様、

凝集していた。粒径は約 4μm から約 150μm など様々な大きさの粒子となった。TEM、SEM 写真を比較すると、SF 粒子同様、焼成により凝集が起こっていると考えられるため、焼成中に凝集を防ぐ方法の検討が必要である。焼成後の TSF 微粒子の XRD を行った結果 TiO_2、Fe_3O_4 のピークを検出することができた（図９）。これらの結果より、二酸化チタン-シリカ包括マグネタイト微粒子の構築法を確立することができたと言える。

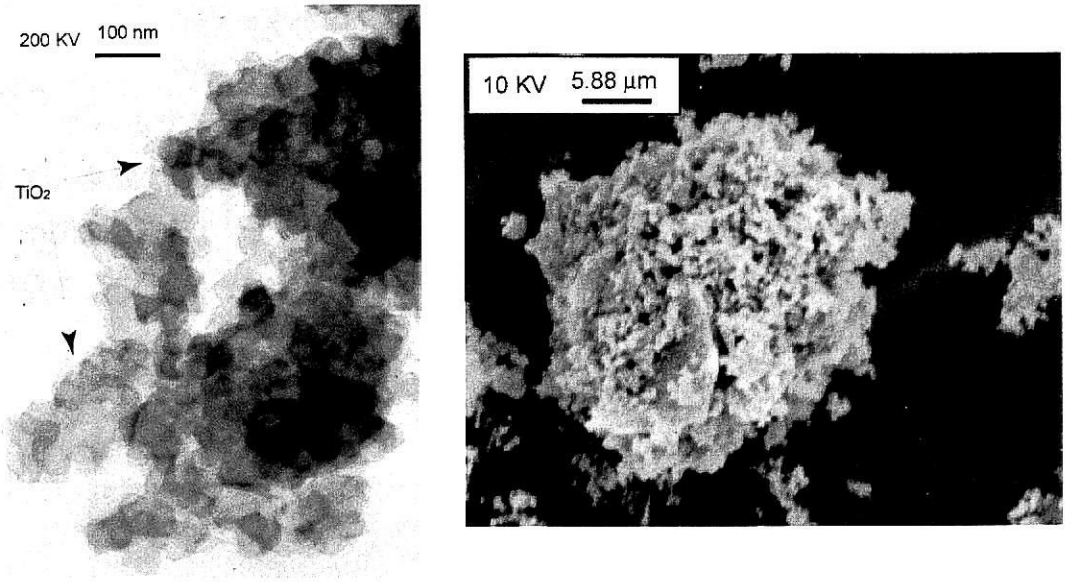

図８　二酸化チタン-シリカ被覆マグネタイト微粒子の電子顕微鏡写真像

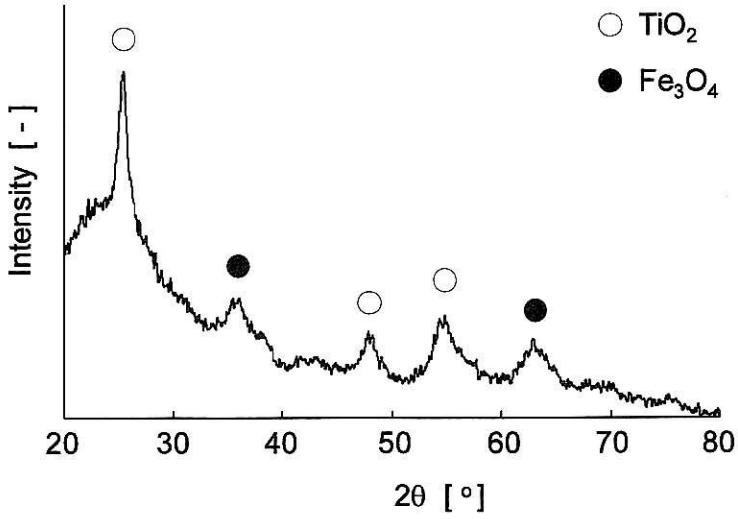

図９　二酸化チタン-シリカ被覆マグネタイト微粒子の XRD 測定

２．３　TSF 微粒子の光触媒活性評価

作製した TSF 微粒子 20 mg に 0.1 mM メチレンブルー溶液を 5.0 ml 添加し、ブラックライトによって紫外線(ピーク波長 362 nm 15 W)を照射した。吸光波長 661 nm で紫外線照射前の吸光度(A_0)と照射後の吸光度(A)を測定し、分解率を次式で定義した。

$$\text{分解率 } [-] = \frac{A_0 - A}{A_0}$$

TSF 微粒子の光触媒活性をメチレンブルー分解によって評価した(図１０)。対照として、TSF 微粒子に紫外線を照射しない場合を用いた。TSF 微粒子に紫外線を照射した場合、60 分間の紫外線照射を行うと、約 60 %の初期濃度の減少が確認できた。一方、TSF 微粒子に紫外線を照射しない場合、60 分で初期濃度の約 40 %の減少が確認できた。したがって、TSF 微粒子に紫外線を照射した場合、初期濃度減少の約 40 %が微粒子への吸着によって起こり、約 20 %が二酸化チタン光触媒反応による分解であると考えられる。以上の結果から、本研究で構築した TSF 微粒子は光触媒活性を有しており、各種有害化学物質の分解にも応用できると考えられる。

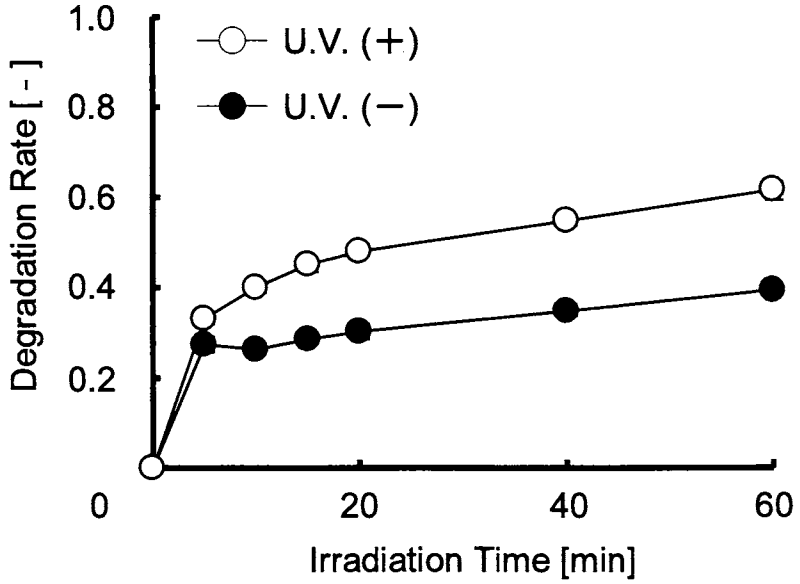

図１０　TSF 微粒子のメチレンブルー分解を指標とする光触媒活性

本研究で、磁場により分離・回収が簡便な機能性二酸化チタン微粒子を構築することができた。しかしながら焼成時の凝集、さらなる光触媒能の向上などが今後検討すべき課題である。この課題を解決することで、機能性二酸化チタン微粒子は水環境浄化をはじめ、医療分野など多くのフィールドで応用される可能性が示唆される。

3． OHラジカルによる有害物質の分解

3．1　塩基性色素メチレンブルーの脱色効果

メチレンブルー溶液（0.1mg/ml）に二酸化チタン粒子を添加し，660nm での吸光度を指標として色素の脱色に対する超音波照射の影響を検討した。二酸化チタン単独の超音波照射（39kHz，60 分）は２０％程度の脱色であったが，過酸化水素の添加により脱色速度の著しい増大が観察された。この脱色速度は過酸化水素濃度（10mM－20mM）で濃度依存的に増加した。しかし過酸化酸素添加のみでは無効であった。また前述の実験と同様，OHラジカルの捕捉剤と考えられているメチルアルコールおよびジメチルスルフォキシドの存在下で脱色速度が有意に抑制された事からも，メチレンブルーの脱色反応へのOHラジカルの関与が強く示唆された。また対照として二酸化チタンと同じ粒経の酸化アルミニウムおよびガラス粒子を同量添加して実験を行ったが，メチレンブルーの脱色は観察されなかった。

3．2　内分泌撹乱物質ビスフェノールAおよびペンタクロロフェノールの分解

メチレンブルーの脱色実験と同様，ビスフェノールA（BPA）およびペンタクロロフェノール（PCP）の分解について検討した。BPAおよびPCPの定量には高速液体クロマトグラフィー・電気化学検出器を用いた。BPA溶液（濃度 1ppm，2ml）に二酸化チタン粒子 0.3g を添加し，超音波照射（39 kHz，200W）を行った。その結果，BPA 濃度は超音波照射に伴い１次反応的に減少し，照射時間15分でほぼ100%の分解を達成することができた(図１１)。同様の実験結果がPCP（1ppm）でも認められた。PCPは化学構造式がダイオキシンと類似であり，ダイオキシンを高効率で分解できる可能性が示唆される。

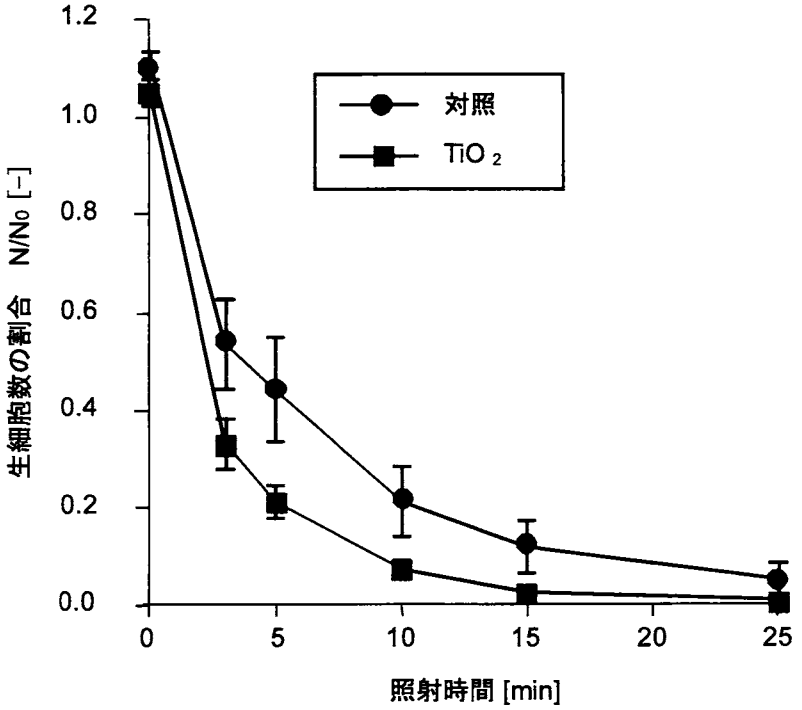

図１１　二酸化チタン・超音波触媒法によるビスフェノールA（BPA)の分解

3．3　二酸化チタン・超音波照射法に適した反応器の設計

ここでは二酸化チタン・超音波照射法を用いたリアクターでの実用化を目指し、色素 Methylene blue (MB) の分解反応を指標として最適反応条件を検討した。

MB 溶液(0.3 mM)1 L 中に、H_2O_2 を 100 mM となるように調整した。反応器に TiO_2 (ϕ=0.5 mm) 200g を入れ、遮光状態で溶液を流し(流量；1.6 ml/min、3.2 ml/min、5.0 ml/min)、超音波を照射した(300 W, 28 kHz)。メチレンブルーの測定は吸光波長 660 nm で照射前の吸光度(A_0)と照射後の吸光度(A)を測定し、その分解率を次式で定義した。

$$分解率\ [-] = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

分解率が最高値を示し、一定になるまで、超音波照射を行った。また、反応器はカラム状(ϕ=46 mm、volume=165 ml)とコイル状(ϕ=8 mm、volume=50 ml)の両者用いて検討した。

カラム状の反応器を用いた場合の結果を図１２(右)に示すが、流量の減少に伴い高い分解率が得られた。また、流量の増加に伴い短時間で分解率が定常に達した。これは反応器内の滞留時間(=反応器容積／流量)に関係があると考えられる。小さい流量で滞留時間は大きくなり、滞留時間の増加に伴って高い分解率が得られる。一方、滞留時間の減少に伴い短時間で分解率が定常に達する。

コイル状の反応器を用いた場合カラム状の反応器を用いた場合と同様な傾向が観察されたが、同じ流量で比較するとコイル状の反応器の場合は短時間で分解率が定常に達し、高い分解率が得られた (図１２(左))。このことから、TiO_2 の近傍で・OH が発生するため、溶液と TiO_2 の接触頻度が MB の分解率に影響していると考えられる。カラム状の反応器を用いる場合は、高い分解率を得るために TiO_2 を撹拌させ、溶液と TiO_2 の接触を増加させることが必要である。

二酸化チタン・超音波照射法を用いたリアクターでMBの分解反応を観察した。その結果、コイル状の反応器を用いることで、より高い分解率が得られ、かつ短時間で分解率が定常に達した。

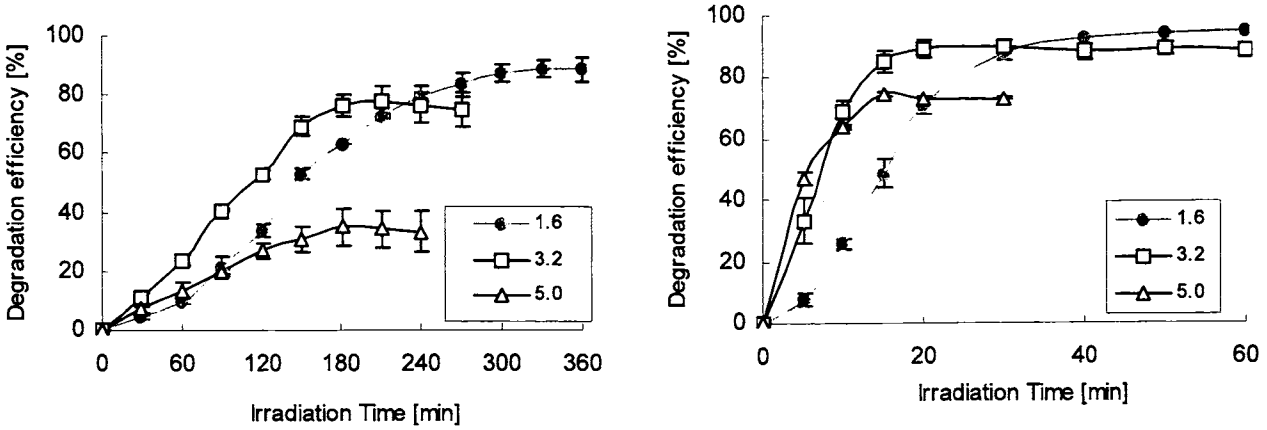

図１２　二酸化チタン・超音波触媒法を用いた流通式反応器の構築と MB の分解

3．4　農薬トリフミンの分解

実用型の流通型反応器を作製し，これを用いて二酸化チタン・超音波触媒法による農薬の分解実験を行った。モデル農薬として育苗施設で稲モミの殺菌剤として用いられる殺菌剤であるトリフミンを選び，連続分解実験を行った。この農薬は稲モミの殺菌処理後に活性炭吸着処理され河川中に放出されているが，大量の 2 次廃棄物の処理が問題となっているものである。トリフミンの分解実験を回分式反応器にて確認実験をしたところ，初期濃度 20ppm のトリフミンで迅速な分解挙動が観察され，およそ 1 時間以内で初期濃度の 10～20%にまで分解されることが確認できた。次に，この結果を基に流通型反応器を用いて連続分解実験を行った。しかしながら，連続運転を 7 時間行ってもトリフミンの分解効率は 50%程度にとどまった。この結果は，反応装置内の流体の不均一流れ（チャネリング）などが考えられる。今回焼成した二酸化チタン粒子(直径 2mm)を細密充填した反応器を用いて実験を行ったが，すべての二酸化チタン粒子が効率よく分解作用に寄与していない可能性がある。現在反応器設計の基礎データの取得を目指して，化学工学的なアプローチを用いて反応効率を支配する因子について検討を行っている。超音波の周波数や照射方法，使用する二酸化チタン粒子の粒径および形状，さらには反応器への試料の供給速度や初期濃度を変化させて実験を行っており，長時間にわたってトリフミンの分解が可能であることを予備実験から確認した。

4．　二酸化チタン・超音波照射法による殺菌評価

光触媒反応を有害微生物の殺菌・抗菌に適用した研究成果が数多く報告されている。一方超音波を利用する殺菌操作も精力的に研究されているが，これらは超音波照射よって生ずるキャビテーション気泡崩壊時の高温・高圧場と水との反応によって生成する OH ラジカルによる酸化反応と，衝撃波あるいは異相系界面近傍での気泡の不均一崩壊による界面に向けたマイクロジェット流による機械的細胞膜の破壊メカニズムを利用したものである。前述のように水溶液中に二酸化チタン粒子を添加して超音波を照射した場合，無添加の場合と比較して数倍高濃度の OH ラジカルが生成する。この技術は従来の光触媒反応と比較して，水相中への超音波浸透距離が大きいなどの利点を有しており，さまざまな分野での応用が期待できる。以下効率的な殺菌システムを開発するための基礎研究として筆者らが行った二酸化チタン・超音波触媒法によるレジオネラ属菌の殺菌作用について述べる.

4．1　微生物殺菌実験および評価方法

超音波照射は出力 200 W，発振周波数 39 kHz で実施した。また，超音波照射による装置内水温の上昇を制御するため，冷却装置を用い水温を 20℃に保った。また超音波照射中の光の影響を無視できるように(光触媒効果の除去)，装置上部に蓋を設置することで，超音波のみの二酸化チタンへの効果を解析した。超音波照射後のレジオネラ殺菌評価にはコロニーカウント法を適用した。微生物懸濁液を希釈後培養プレートに蒔き，37℃で 72 時間培

養した。その後，形成したコロニー数をカウントし，コロニー形成単位（colony forming units ; cfu）を算出した。また，超音波照射前のコロニー形成単位を N_0（cfu/ml），照射後のコロニー形成単位をN（cfu/ml）として，N/N_0（菌の生存率）を求めた。

4．2　レジオネラの初期濃度と殺菌効果

48 時間培養したレジオネラ懸濁液を 10^6 倍希釈し，二酸化チタン粒子（ϕ=2mm，10g）の入った反応容器へ 10ml 分注した。この試料に超音波照射（0min，30min，60min）を行った後，サンプルをプレートに蒔いた。そのプレートを培養器にて培養し，超音波照射前と照射後のコロニーを観察した（図１３）。超音波照射 30 分ではコロニー数が著しく減少し，照射 60 分では完全に殺菌された。この結果は，大腸菌に対する結果と非常に類似しており，両者の結果より「二酸化チタン・超音波触媒法」がレジオネラの殺菌にも有用であることが示された。

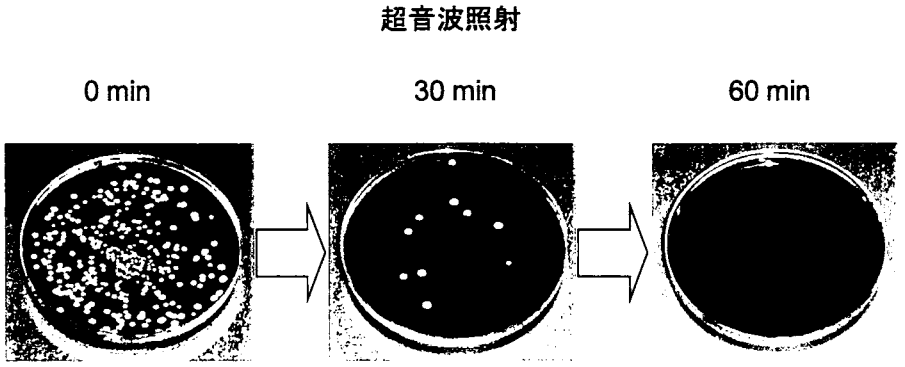

図１３　二酸化チタン・超音波触媒法によるレジオネラコロニー形成の減少

次に菌の初期濃度を変化させることによる殺菌効果への影響を検討した。大腸菌殺菌条件と同様に 1.0g/ml の二酸化チタン粒子存在下で超音波を 30 分照射すると菌濃度は約 1/100 に減少し，良好な殺菌効果が示された。菌濃度を変化させても殺菌効果が観察されたことから，高濃度のレジオネラ懸濁液でも本法が適用できると考えられる。また，菌の初期濃度が 7.8×10^2 cfu/ml では超音波照射 30 分で完全に殺菌された。この結果は，公衆浴場の浴槽水などに存在しているレジオネラ属菌(1.0×10^2 cfu/ml 以下)への本処理法の適用可能性を証明するものである。

4．3　二酸化チタン粒子の添加量と殺菌効果

二酸化チタン粒子の添加量を変化させることによる殺菌効果への影響を検討した(図１４)。超音波照射 5 分では 0.2，0.5，1.0g/ml の二酸化チタン粒子存在下でレジオネラがそれぞれ初期濃度の 55，42，35%に減少し，二酸化チタン添加量を増加させることで

良好な殺菌効果の増強が示された。また，菌の生存率の経時的変化は二酸化チタン添加量の増加に伴い有意な差が観察され，1.0 g/ml の二酸化チタン粒子存在下では超音波照射 30 分でレジオネラのすべてが死滅した。以上より，レジオネラの殺菌においても二酸化チタンの表面積の増大に依存して殺菌効果が高まっていることが明らかとなった。さらに，大腸菌殺菌系と同様に酸化アルミニウムによる比較実験でも有意な差を持って処理能力が確認できたことから，OH ラジカルの細胞膜への攻撃による殺菌が示唆された。一方，二酸化チタンが存在しない条件下でも超音波照射 30 分で 18%の減少が観察された。これはキャビテーション気泡の圧壊時に形成されるマイクロジェット流によってひき起こされる菌の二酸化チタン粒子表面への衝突，さらには高温・高圧場の形成などの物理的要因による殺菌効果であると考えられる。

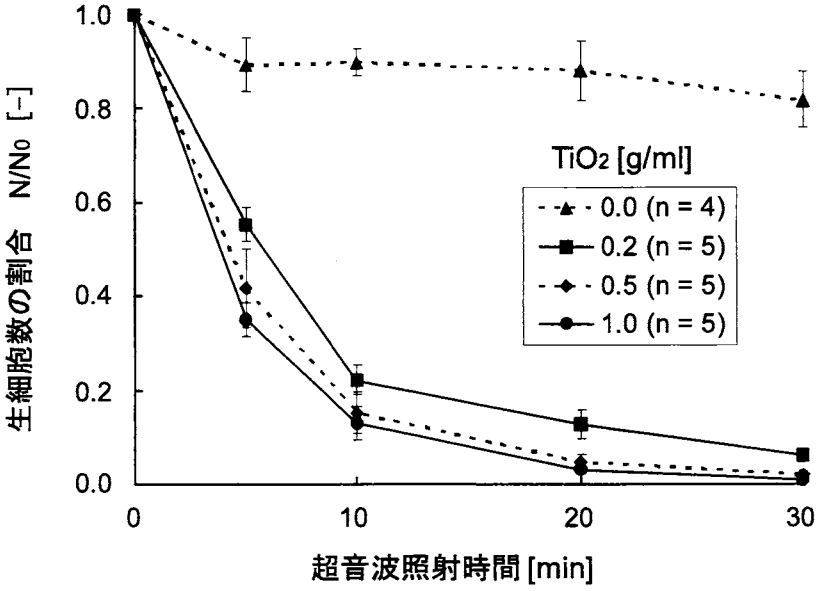

図１４ 二酸化チタン濃度依存的なレジオネラ殺菌効果

４．４　ラジカル捕捉剤の添加によるレジオネラ殺菌への効果

これまで述べたように，二酸化チタンに超音波を照射することでモデル微生物（レジオネラ属菌）において良好な殺菌効果が示され，微生物処理法の一つとして「二酸化チタン・超音波触媒法」を適用できることが明らかとなった。殺菌メカニズムとして OH ラジカル等の活性酸素種による化学的要因および前述の超音波照射場に特有の物理的要因（キャビテーション圧壊，マイクロジェット流および微生物の二酸化チタン粒子との衝突）が考えられるが，本手法で生成されるであろう OH ラジカルの関与を検討した。これには様々なラジカル捕捉剤存在下での殺菌効率の変化を解析し OH ラジカルの関与を検討した。

大腸菌の殺菌と同様に，二酸化チタン・超音波触媒法により生成される OH ラジカルの殺

菌への関与を検討するために，ラジカル捕捉剤（ヒスチジンおよびアスコルビン酸）を超音波照射する前のサンプルに添加して実験を行った（図１５）。ラジカル捕捉剤を添加しない場合は初期濃度の18%まで減少したが，ヒスチジン(10mM)あるいはアスコルビン酸(30mM)を添加した場合はそれぞれ初期濃度の24%，29%までに殺菌作用が抑制され，両者には有意の差が観察された。グルタチオン添加によっても初期濃度の 38%までに抑制され，更にグルタチオン濃度依存的にレジオネラ死滅が抑制された。以上の結果から，ヒスチジン，アスコルビン酸，グルタチオンはOHラジカルを特異的に捕捉することから，レジオネラ殺菌機構にもOHラジカルが関与していることが強く示唆された。

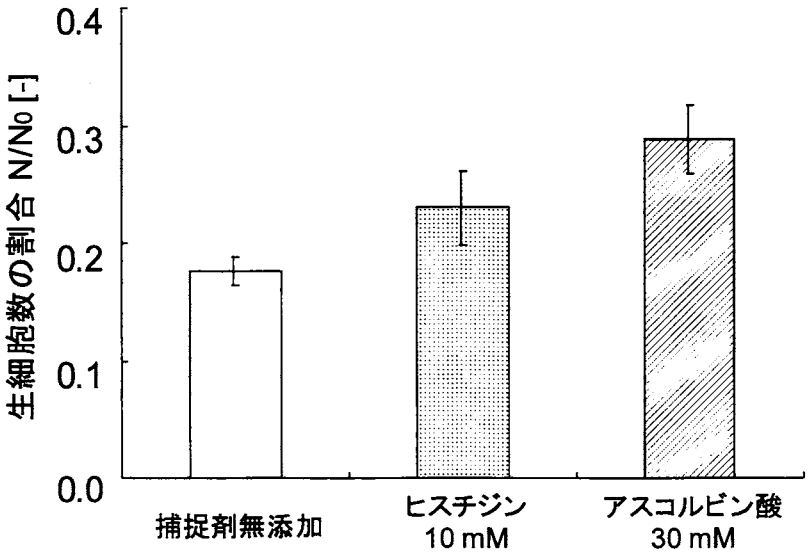

図１５ ラジカル捕捉剤によるレジオネラ殺菌抑制効果

４．５　細胞膜損傷によるゲノムDNA漏出とDNA損傷

前項までと同様な実験方法にて，液体培養を行った大腸菌に二酸化チタン粒子を添加し，遮光状態において超音波照射処理を行った。経時的に処理試料の上澄みを採取し，DNA 解析法の一つであるアガロース電気泳動法により解析を行った（図１６）。エチジウムブロマイド染色により確認した結果，超音波照射前には上澄みにはDNA漏出は確認されておらず，超音波照射時間に依存して上澄みにDNA漏出が確認された。更に，漏出したDNAの照射時間依存的な断片化現象も確認することが出来た。この結果は，以前に報告した細胞膜損傷による蛍光物質の漏出と同じ傾向にあり，二酸化チタン/超音波照射により細胞膜の損傷が起きていることを示唆するものである。

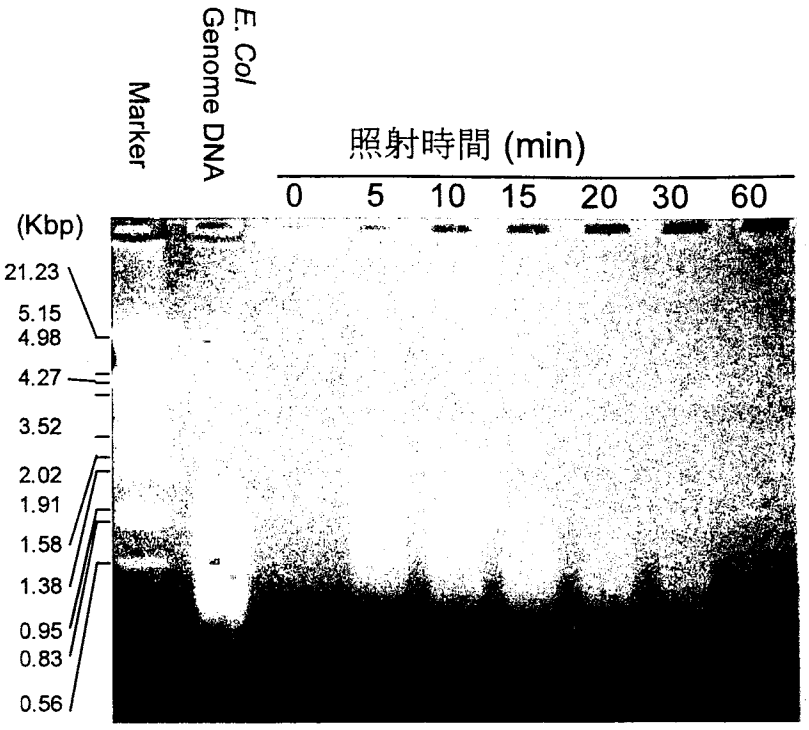

図１６ 超音波照射に伴う大腸菌からのゲノムDNA漏出

二酸化チタン/超音波照射処理を行った大腸菌の上澄みをアガロース電気泳動法により解析。白く光っている部分がDNAに相当。照射時間の増大に伴い、低分子側に断片化しているのが確認できる。

5. おわりに

二酸化チタン・超音波触媒法によるOHラジカルの生成メカニズムと有害物質・微生物の分解・殺菌について筆者らの研究成果を中心に紹介した。超音波単独照射と比較して，二酸化チタンを添加することにより有害物質の分解速度・殺菌速度が大幅に増強された。これはOHラジカルの生成が促進されたことが主な要因と考えられる。また微生物殺菌メカニズムに関しては，① OHラジカルによる細胞膜の傷害に加えて，② キャビテーション気泡の崩壊時に生ずる二酸化チタン粒子に向かう超高速な流れ（ジェットストリーム）と二酸化チタン粒子への衝突による物理的な細胞膜傷害，③ キャビテーション気泡圧壊時に形成される高温・高圧場の関与などが考えられる。

本研究により，有害物質処理法の一つとして二酸化チタン・超音波触媒法が有効であると考えられるが，今後は本手法による大量処理システムへの適用とその操作条件を検討する必要がある。さらに二酸化チタン・超音波触媒法によるOHラジカルの生成機構のさらなる解明が課題である。