

光触媒技術のバイオ関連応用

Applications of Photocatalysis in Biology

東京理科大学 理工学部
応用生物科学科
准教授

博士 (理学) 中田 一弥
Kazuya Nakata



はじめに

光触媒は日本発の科学技術であり、エネルギー・環境問題を解決する切り札としての将来性が期待されている。現在、主に使用されている光触媒は「酸化チタン」であり、光照射によって「酸化分解力」と「超親水性」の二つの機能が発現する（図1）り。「酸化分解力」は消臭、抗菌などに、「超親水性」は防曇、防汚（セルフクリーニング効果）などにそれぞれ応用されており、様々な製品が販売されている。

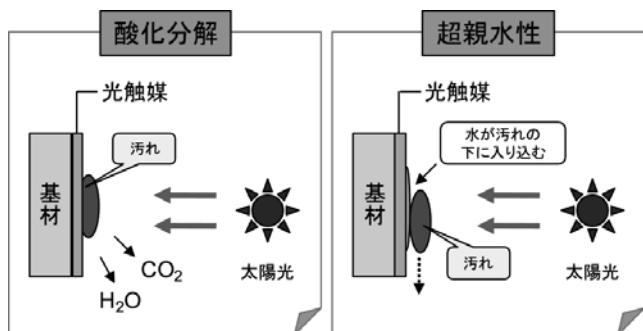


図1 光触媒の酸化分解と超親水性

一方、光触媒には様々な応用分野がある中で、さらなる開拓の余地があるのがバイオ関連分野である。全ての生物は細胞すなわち有機物からできているため、本来、光触媒の酸化分解力をバイオ関連分野に応用しようとした場合には主に抗菌・抗ウイルス応用に限られていた。ところが、最近の研究により光触媒の機能を活かしたバイオ関連分野における新しい展開が開けてきた。本稿では最新の研究成果についてご紹介したい。

1. 光触媒を用いた種子の発芽率向上

現在の農業分野において、作物を高品質で安価か

つ大量に生産することがますます求められている。作物を栽培する際、種子の厚まきをした後、間引きをすることで発芽率の低さを補い、弱い個体を排除する作業が行われることがある。しかし、この方法は種を大量に蒔くことを前提としている他、間引きの機械化が困難であるため、労力を要する。したがって、種子の発芽率を向上させることができれば、播種する種子の量を減らすことが出来、かつ労力を削減することができると期待される。種子の発芽の際には活性酸素が大きな役割を果たしていることが報告されており、過酸化水素などの活性酸素種により発芽率が向上することが知られている。代表的な光触媒であり、安価かつ生体への安全性の高いことで知られている酸化チタンは、光照射をした際に活性酸素種を発生する。そこで本研究では、酸化チタンナノ粒子によって種子の発芽率を向上させることを目的とした。

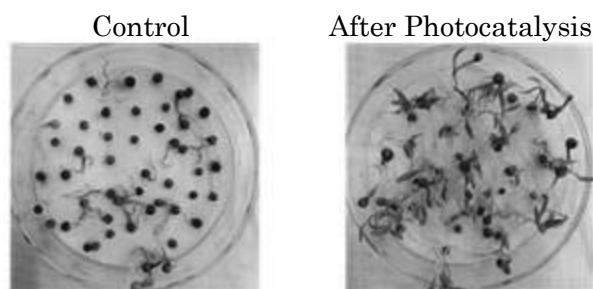


図2 (左) 通常の発芽、および (右) 光触媒処理後の発芽の様子

今回、コリアンダーの種子を用いた。酸化チタンナノ粒子の懸濁液に種子を入れ、紫外光照射を行い、その後に取り出してシャーレ上で種子の発芽の観測を行った。その結果、光触媒処理を行った種子は

コントロールに比べて発芽率が向上していた(図2)。また、酸化チタンナノ粒子懸濁液中で暗所にて処理した種子の発芽率は、コントロールと同等であったため、ナノ粒子自体の種子への影響は無視できると考えられる。

2. 光触媒反応が作り出す過酸化物による芽胞の不活化

人体の健康に悪影響を及ぼす原因の一つに微生物によるものがある。これらの病原性微生物はアルコール殺菌や加熱等の処理によって容易に不活化させる事ができるものも多いが、一方でそれらの方法では不活化が困難な菌も存在する。その代表例として芽胞形成菌(以下、芽胞菌と略す)がある。芽胞菌は栄養源の枯渇や水分の減少といった劣悪な環境下に置かれると厚い蛋白の殻をもつ芽胞を形成し、アルコール消毒や100°Cの煮沸でも死滅しない強力な耐性をもつようになる。芽胞菌には人体に対しての致死量が約50 ngといった地球上で最強の毒素を持つボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*)や集団食中毒の原因となっているウェルシュ菌(*Clostridium perfringens*)等があり、食品業界や医療業界にとって深刻な問題となっている。これまで芽胞菌を死滅させる消毒剤として高濃度の過酢酸消毒剤が使用されてきた。しかし、酸化力が非常に強いことから劇物に指定されており、生体への危険性が強く懸念される。

一方、生体に安全な環境浄化材料として光触媒材料が注目を集めている。代表的な光触媒として知られる酸化チタンは光を照射すると活性酸素種を生成し、菌やウイルスを不活化できることが知られている。しかし、酸化チタンから発生する活性酸素種の酸化力をもってしても芽胞菌を不活化することは困難であった。そこで本研究では、生体安全性が高いアルコール消毒剤を光触媒の活性酸素種によって酸化させることで過酸化物を生成させ、芽胞の不活化を目指した。つまり、光触媒はその表面上で酸化還元反応を誘導するため、エタノールが光触媒の周りに存在するとエタノールは酸化し酢酸へ、空気中の酸素は還元して過酸化水素となるため、それら酢酸と過酸化水素が反応することにより過酢酸

ができるのではないかと考えた。

今回、光触媒として過酸化水素を生成しやすい酸化タングステン(WO_3)を用いることとした。酸化タングステンを用いた際の各条件下における芽胞菌の生存率の推移を図3上にしめす。可視光照射下でエタノール水溶液の濃度が70% (v/v)の場合、芽胞菌の不活化が確認され、最終的に全滅することが分かった。また光触媒反応後の溶液をHPLCを用いて過酸化物の検出を試みたところ、その生成を確認した。これにより酸化タングステンを用いた場合はエタノールの酸化分解による過酸化物生成が示唆された。

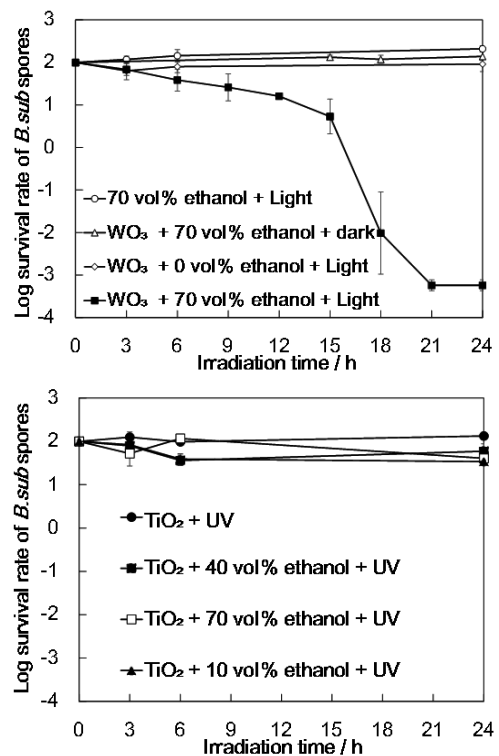


図3 酸化タングステン(上)および酸化チタン(下)を用いた際の各条件下における芽胞菌の生存率

一方、比較として光触媒である酸化チタンを用いた際の各条件下における芽胞菌の生存率の推移を図3下にしめす。酸化チタンを用いた際には各条件において芽胞菌の不活化は見られなかった。また光触媒反応後の溶液について過酸化物の検出を行ったところ、生成されていなかった。つまり酸化チタンを用いた際には過酸化物生成は起きていないことが示唆された。

過酸化水素生成には過酸化水素の存在が必須である。酸化チタンでは還元反応において酸素からスーパーオキシドアニオンラジカルへの反応が主となり過酸化水素の生成量が少ないことが知られている。一方、酸化タングステンでは還元反応において酸素から過酸化水素への反応が主となり過酸化水素の生成量が多い。したがって、酸化タングステンは酸化チタンよりも過酸化水素が生成しやすく、過酸化水素生成の条件として優位であると考えられる。また、酸化タングステンはアセトアルデヒドを二酸化炭素へ完全に分解することができず、酢酸などの中間生成物で反応が止まってしまうことが知られている。したがって、本研究においても酸化タングステンではエタノールを二酸化炭素まで分解できず酢酸やギ酸などの中間生成物で反応が止まってしまうことが予想され、これが過酸化水素と反応し過酢酸や過ギ酸のような過酸化水素生成へとつながったと考えられる。

本研究で提案した光触媒とエタノールを組み合わせた過酸化水素生成による芽胞菌の不活化は高濃度の過酸化水素などの危険な試薬に直接触れる必要がないため、これまではない新しい方法として期待される。

3. 金属ドーパ光触媒による選択的抗微生物活性

従来から実用されてきた光触媒は紫外光にしか応答しないものがほとんどであったが、近年実用に耐えうる可視光応答型光触媒の開発が進んでいる。そのため、今まで以上に様々な場所（例えば室内）で光触媒が利用されることが期待されており、特に抗菌及び抗ウイルスへの応用は期待が高い。最近では衛生環境向上のために病院や学校などへの利用が検討され始めている。しかし、より強力な抗菌、抗ウイルス活性を有する可視光応答型光触媒の開発のためには、可視光応答型光触媒が菌やウイルスに対してどのような作用機構をしめすのかを明らかにする必要がある。

Rh ドープ SrTiO₃（以下 STO:Rh）は可視光応答型光触媒であり、揮発性有機化合物であるアセトアルデヒドの分解活性をしめすことが報告されている。そのため STO:Rh は抗微生物活性も有していると期

待される。そこで本研究では、STO:Rh を用いた大腸菌 (*Escherichia coli* (IAM-12119^T)) の抗菌性能評価、およびウイルスの代替としてバクテリオファージ Qβ (Bacteriophage Qβ (NBRC20012)) を用いた抗ファージ性能評価についても検討し、それぞれの作用機構について考察した。

STO:Rh を用いた抗菌、抗ファージ試験の結果、大腸菌およびファージの生存率が減少し、抗菌効果（照射 24 時間後で 99.99%）および抗ファージ効果（照射 4 時間後で 99.9999%）があることが確認された（図 4 上）。また大腸菌に比べてファージでは短い照射時間で生存率の減少が認められた。このことから STO:Rh は抗菌効果に比べて抗ファージ効果が強く認められ、ファージに対して特異的に効果があることがしめされた。

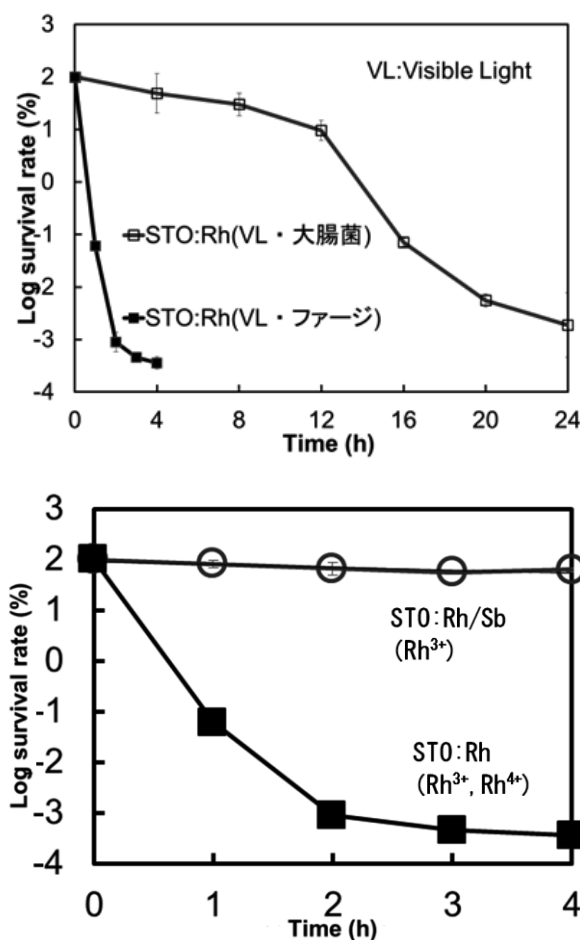


図 4 (上) STO:Rh による抗菌・抗ファージ評価、および (下) STO:Rh/Sb と STO:Rh の抗ファージ評価の比較

次に、STO:Rh ファージに対して選択毒性を有することについて考察した。STO:Rh は、Rh イオンの

価数が3価と4価の混合であり、それらのいずれか、もしくは両方がファージへの選択毒性と相関があると推測した。この予測を検討するために、Rh イオンと Sb イオンを共ドーピングした光触媒を作製した (STO:Rh/Sb)。この光触媒は5価の Sb イオン影響で Rh イオンの価数が3価のみとなる。つまり、この二つの光触媒を比べることで4価の Rh イオンの有無が抗ファージ活性に影響をあたえるのかどうかを調べることが出来る。

まず、STO:Rh と STO:Rh/Sb との抗菌性能について比較した。可視光照射下ではどちらの光触媒に対しても照射24時間で大腸菌生存率の減少が認められた。一方、暗所下においてはどちらの光触媒に対しても大腸菌生存率の減少は認められなかった。このことから生存率の減少は光触媒効果によるものだと考えられる。二つの抗菌効率を比べてみたところ、照射24時間においてほぼ同じような生存率となっているため大腸菌に対しては4価の Rh イオンが与える影響はほぼ無いことが示唆された。次に、STO:Rh と STO:Rh/Sb の抗ファージ性能について実験を行った。STO:Rh/Sb は可視光を4時間照射したにも関わらずファージ生存率の減少はほとんど認められなかったが、STO:Rh ではファージ生存率の大幅な減少を確認した (図4下)。このことから4価の Rh イオンが抗ファージ性能に大きく寄与していることが推察された。STO:Rh によるファージへの影響について調べた結果、 capsid タンパク質の崩壊はみられるものの、 coat タンパク質が分解しないことや、RNA 量の減少が見られなかった。このことから、4価の Rh イオンが capsid タンパクのジスルフィド結合に結合して capsid タンパクの崩壊を引き起こしている可能性を考えている。

4. 光触媒反応を用いた希少糖生成

希少糖は天然に存在量の少ない単糖およびその誘導体と定義されており、50種類以上が存在する。近年、希少糖は様々な生理活性が報告されており、医薬品や食品への応用が期待されている。例えば、D-アロースは活性酸素産生抑制や癌細胞増殖抑制などの生理活性をしめし、また D-プシコースは低カロリーでありな

がら砂糖の70%の甘味、高い溶解性などをしめすだけでなく、食品への添加によって良好な食感、保水性、展延性、弾力性、抗酸化性の増大などをもたらすため、食品加工分野への応用研究が進められてきた。

従来の希少糖生成法は酵素による糖の異性化反応や、酸などを用いた化学生成法が利用されてきた。しかし、異性化反応では酵素が生産コストを大きく押し上げ、化学生成法では危険な試薬を用いるといった課題があった。そこで我々のグループでは光触媒反応に着目した。光触媒の代表的な材料である酸化チタンは光照射により高い酸化分解能をしめすため、糖の酸化反応を促進し希少糖生成に利用できるのではないかと考えた。酸化チタン自身は低コストで調達することができ、安全かつ容易に使用できることもメリットである。本研究では、酸化チタンがしめす光触媒反応を利用し、アルデヒド基を持つアルドース単糖類からの希少糖の生成を目指した。

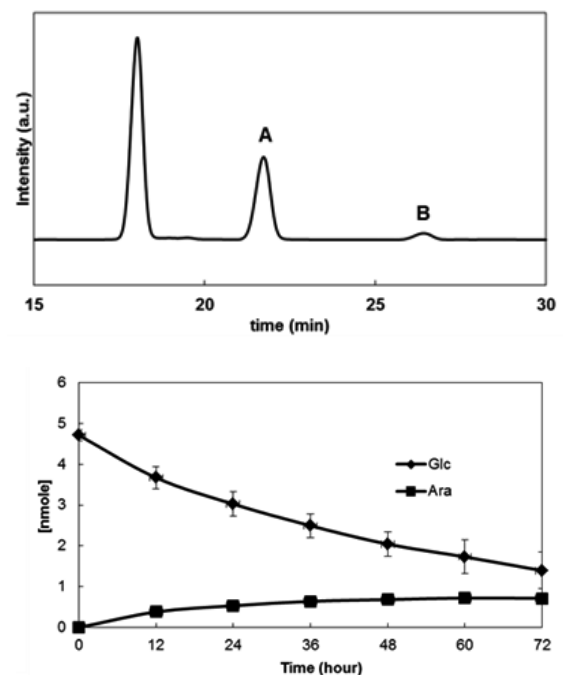


図5 (上)酸化チタン処理後のグルコース分解溶液のHPLCクロマトグラム(光照射48h後)、(下)継時時間ごとのグルコースおよびアラビノースの物質質量変化

はじめに単糖であるグルコースを酸化チタンを用いて紫外光照射下で処理した。光照射48時間後のサンプルの高速液体クロマトグラムを図5上にしめす。グルコースの他に、AとBの未知物質のピークが観測された。

ピークの保持時間、分子量、および¹H NMR スペクトルから、A はアラビノースと同定された。照射によるグルコースとアラビノースの物質変化を図 5 下に示す。グルコースの物質が減少し、アラビノースでは増加したことから、光触媒効果によってグルコースが分解され、アラビノースが生成されると推測した。

グルコース分解によるアラビノース生成について、その反応機構を次のように予想した。グルコースは光触媒反応によって酸化され、そのアルデヒド基がカルボキシル化する。次にそのカルボキシル基が脱炭酸することによって炭素が一つ減じたアルデヒド基をもつアラビノースが生成される。このように光触媒反応を用いると単糖の α 炭素を一つ減じることが出来る。そこで、他の単糖についても同様の反応が起こると考え、ガラクトース、マンノース、グルコース、アロースについても同様の条件で検討を行った。その結果、予想通りにそれぞれの単糖から α 炭素が一つ減じたリキソース、アラビノース、キシロース、リボースの生成を確認した。以上の結果からアルドヘキソースを光触媒で処理することにより α 炭素が一つ減じたアルドペントースが規則的に生成されることを見出した(図 6)。特に天然に豊富なガラクトースから希少糖であるリキソースが生成できたことは、希少糖の新規生産法を見出した点で意義深い。

5. 植物灰添加による可視光応答型光触媒酸化タングステンの高活性化

光触媒は照射により揮発性有機化合物の酸化分解性能をしめすことから環境浄化材料として広く使用されている。その光触媒材料の中でも酸化タングステンは可視光下で光触媒活性を発現する可視光応答型光触媒として知られている。しかし、酸化タングステンは照射によって励起された電子によって自己還元され、タングステンイオンの価数が 6 価から 5 価へと変化することにより光触媒活性が低下するため、揮発性有機化合物の完全分解は困難であることが問題となっている。そこで酸化タングステンの高活性化を目指すため、白金やパラジウムを担持した酸化タングステンが作製され、揮発性有機化合物の完全分解への試みがなされてきた。しかし、これらの光触媒は酸化タングステンの高活性化のために貴金属が使用されているため高コスト化に問題がある。そこで本研究では貴金属を使用せずに酸化タングステンの高活性化を目指すため、地球上に豊富に存在する植物から作製される植物灰に着目し、その添加による酸化タングステンの揮発性有機化合物分解性能への影響について検討した。

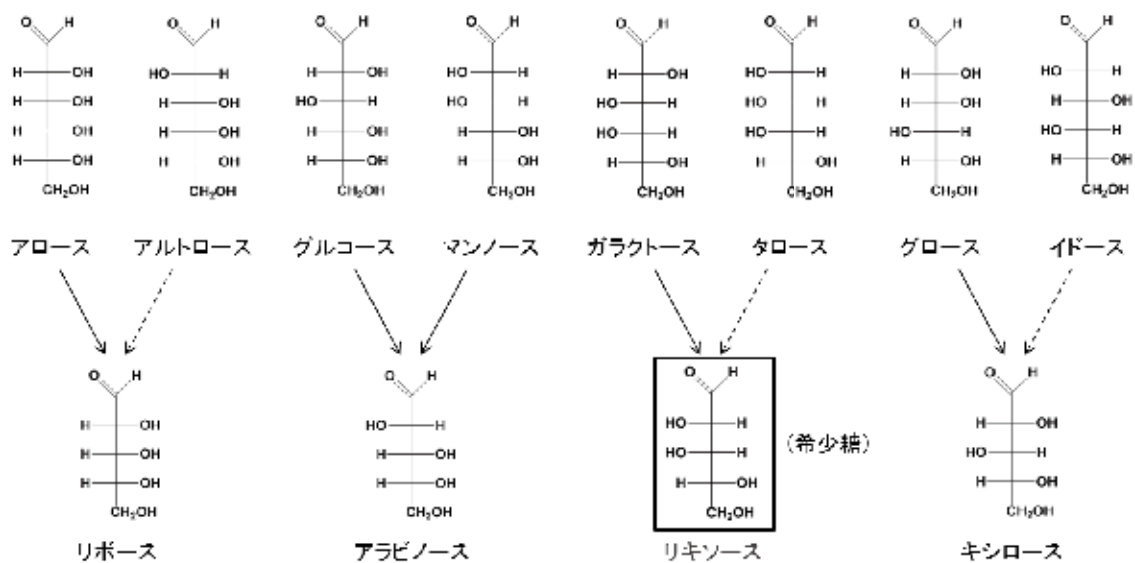


図 6 アルドヘキソースの光触媒分解によるアルドペントースの生成

今回、植物灰としてバジルの葉を燃焼して作製したバジル灰を用いた。次に、バジル灰と酸化タングステンの粉末を混合し、アセトアルデヒドを用いた光触媒活性評価を行った。その結果、バジル灰を添加した酸化タングステンでは可視光照射4時間後にアセトアルデヒドが完全分解していることがわかった。これは酸化タングステン単独ではアセトアルデヒドの完全分解が難しいこととは大きく異った。また、バジル灰の添加量の最適化を行ったところ 2.5 wt%添加したものが最も高活性であることが分かった。

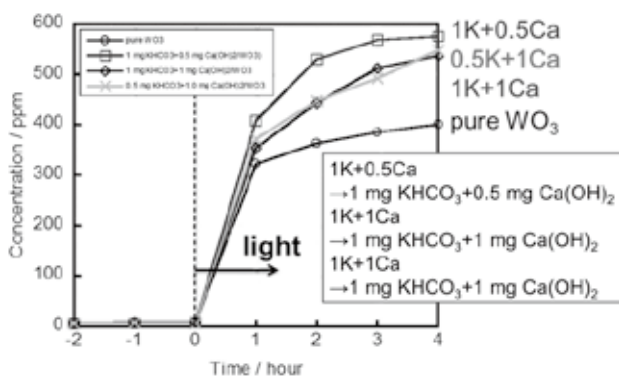


図7 植物灰を添加した酸化タングステンの可視光照射下でのアセトアルデヒド分解による二酸化炭素の発生

次に、植物灰を添加することによる酸化タングステンの高活性化の理由を明らかにするため、バジル灰の主成分を粉末 X 線回折を用いて調べたところ、主に $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、 MgO 、 KHCO_3 であることが分かった。そこで、これらが酸化タングステンの高活性化の原因であるかを調べるために、酸化タングステンに KHCO_3 、 MgO 、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ をそれぞれ混合して光触媒活性を評価した。その結果、 MgO を添加したものは低活性になったのに対し、 KHCO_3 と $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の両方を添加したものは高活性化しアセトアルデヒドが完全分解されることが分かった(図7)。一方、 KHCO_3 もしくは $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の片方の試料を酸化タングステンに添加した場合は高活性化が見られなかったことから、 KHCO_3 と $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の二成分が高活性化には不可欠であることが分かった。このことから植物灰に含まれる KHCO_3 と $\text{Ca}(\text{OH})_2$ が酸化タングステンの高活性化に寄与していると考えられる。既報ではセシウム塩で WO_3 を表面処理することにより表面に薄いタングステン酸セシウム層が形成され、水分解に

おける酸素生成能が大幅に向上するという報告がある。したがって、植物灰に含まれる KHCO_3 と $\text{Ca}(\text{OH})_2$ が酸化タングステン表面を塩基処理し、タングステン酸カルシウムまたはタングステン酸カリウム等の薄い層が形成され、光触媒活性向上につながったと予想している。

6. おわりに

以上、光触媒の機能を活かしたバイオ関連分野における新しい展開についてトピックスを紹介した。光触媒とバイオの境界領域にはまだまだ開拓の余地があり、更なる新しい発展が期待される。

参考文献

- 1) Kazuya Nakata, Akira Fujishima, "TiO₂ photocatalysis: design and applications", J. Photochem. Photobiol. C, 2012, 13, 169-189.