

籠状分子構造タンパク質内で合成した Pd-Cu ナノ粒子の構造解析 Structural analysis of nano-particles of Pd-Cu synthesized in apoferritin cavity

田中 万也^a, 鈴木 義規^a, 大貫 敏彦^a
Kazuya Tanaka^a, Yoshinori Suzuki^a, Toshihiko Ohnuki

^a(独)日本原子力研究開発機構先端基礎研究センター

^aAdvanced Science Research Center, Japan Atomic Energy Agency

籠状分子構造を持つ水に可溶性タンパク質であるアポフェリチン(apoFr)は金属ナノ粒子の作製場として注目されている。本研究では新規硝酸イオン還元触媒として apoFr 内における Pd-Cu ナノ粒子の合成を試みた。合成した試料の Cu-K 吸収端及び Pd-K 吸収端 EXAFS スペクトルを測定した結果、Cu-Cu 結合や Pd-Pd 結合の他に Pd-Cu 結合の存在が示された。本研究の結果は apoFr 内に Pd-Cu ナノ粒子が合成できることを示すものである。

キーワード： アポフェリチン、硝酸イオン還元触媒、Pd-Cu ナノ粒子、EXAFS

背景と研究目的：

硝酸イオン(NO_3^-)は人体内に取り込まれると体内微生物により亜硝酸イオン(NO_2^-)に還元される。亜硝酸イオンは血液中のヘモグロビンと結合しメトヘモグロビンを形成し、酸素欠乏症(メトヘモグロビン血症)の原因となることが知られている。特に乳幼児の胃腸内は酸性度が弱いため、体内微生物による硝酸イオンの還元が起きやすく、メトヘモグロビン血症にかかりやすいと考えられている。このことから、飲料水に対しては日本では 10 mgN/L の水質基準が設けられている。しかし、窒素施肥や畜産廃棄物等などの人為的窒素負荷の増加により、世界的に地下水の硝酸イオン汚染が問題視されている。今後も、硝酸性窒素汚染が世界的に進むことが考えられ、早急な対策を施す必要がある。この問題の一つの解決策として触媒を用いた硝酸イオンの N_2 への還元が挙げられる。近年、活性炭に Pd-Cu 合金を担持した固体触媒が硝酸イオンの還元を触媒することが報告されている。このような固体触媒は硝酸イオンの還元には有効であるが、触媒反応が固液界面に限られる。したがって、触媒の有する反応面積及び触媒の濃度が触媒反応効率に大きな影響を及ぼす。そこで我々は、Pd-Cu 合金をナノ粒子化することで触媒の比表面積を増加させ、水溶液中に高濃度かつ均質に分散させる手法の確立に着手した。

アポフェリチン(apoFr)は外径約 12 nm、内径約 8 nm の籠状分子構造(分子量:480,000)を持ち、水溶液中に可溶性タンパク質である(図 1)。apoFr は酸性からアルカリ性(pH2~11)の水溶液中において安定で、熱にも比較的強い(80°Cまで安定)、ナノ粒子の作製場として注目されている。先行研究によって apoFr 内部に Pd^0 や Cu^0 の金属ナノ粒子を合成できることが報告されている[1,2]。そこで、我々は Pd-Cu ナノ粒子も同様に apoFr 内部に合成できるのではないかと考えた。これまでの我々の研究で Pd と Cu の両方を同時に添加した実験系において apoFr にナノ粒子を内包させることに成功している。しかし、Pd と Cu が単独で金属粒子を形成しているか、あるいは Pd-Cu 合金ナノ粒子が形成しているのかは不明であった。Cu 及び Pd の配位環境を明らかにすることができれば apoFr 内の Pd-Cu ナノ粒子の存在を示せると考えられる。本研究の目的は、XAFS 法を用いて apoFr 内部に形成したナノ粒子の Pd 及び Cu の配位環境を明らかにすることである。

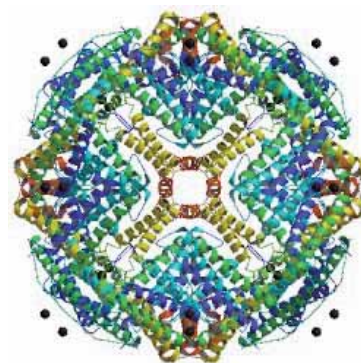


図 1. アポフェリチンの籠状分子構造

実験：

XAFS 測定に用いる apoFr ナノ粒子試料は先行研究に若干の改良を加えて作製した[1,2]。まず初めに apoFr を 0.4 mg/L 含む 10 mM Tris-Cl 緩衝溶液を作製した。この緩衝溶液に Pd, Cu がそれぞれ 0.2 mM になるように $KPdCl_4$ と $CuCl_2$ を添加し、30 分間程度攪拌した。その後、還元剤として $NaBH_4$ を 1 mM になるように添加した。 $NaBH_4$ を加えるとすぐに黒色微粒子の形成が始まった。比較のために Pd のみまたは Cu のみを含む系においても同様の合成を行った。apoFr 内にナノ粒子が形成していることは透過型電子顕微鏡 (TEM) による観察により確認した。apoFr 内のナノ粒子だけでなく apoFr 外に大きな金属粒子が形成している可能性があるため、0.2 μm フィルターで濾過して apoFr ナノ粒子を回収した。さらに、分子量 100,000 の限外濾過フィルターを用いて apoFr ナノ粒子の濃縮を行った (体積で約 50 倍濃縮)。濃縮後の apoFr ナノ粒子はフィルムバッグに封入し、さらに酸素吸収材とともに二重に封入したものを XAFS 測定用試料とした。また、TEM 観察結果をサポートするためのデータを取得するために、サイズ排除カラム (SEC-HPLC) ICP-MS を用いて PdCu-apoFr ナノ粒子試料の測定を行った。また、一部の PdCu-apoFr 試料は濃硝酸で完全に溶解した後、ICP-AES を用いて Pd, Cu の定量を行った。

XAFS 測定は SPring-8 の産業利用 II ビームライン (BL14B2) で行った。PdCu-apoFr ナノ粒子試料は Cu-K 吸収端 (8.98 keV)、Pd-K 吸収端 (24.347 keV) の両吸収端でそれぞれ XAFS 測定を行った。Cu の標準試料として Cu 金属薄膜、CuO 粉末試薬、 $Cu(OH)_2$ 粉末試薬の測定を行った。Pd の標準試料は Pd 薄膜、 K_2PdCl_4 粉末試薬の測定を行った。金属薄膜以外の粉末試薬は窒化ホウ素 (BN) で希釈し円盤状に成型したものを透過法による測定に用いた。apoFr 試料は 19 素子半導体検出器を用いた蛍光法で測定を行った。

結果および考察：

SEC-HPLC-ICP-MS による PdCu-apoFr ナノ粒子の測定結果を図 2 に示す。apoFr は波長 280 nm の紫外光に対して 9~10 分後に吸収ピークが現れるのが特徴である。これに対応して Cu と Pd が ICP-MS によって検出されていることがわかる。このことは apoFr が Cu や Pd と何らかの形で共存していることを示しており、ナノ粒子の存在を示した TEM 観察の結果と調和的である。また、ICP-AES の分析結果から PdCu-apoFr ナノ粒子の Cu/Pd 比はおよそ 1.15 であることがわかった。

Cu-K 吸収端 EXAFS スペクトルの測定結果を図 3 にプロットした。PdCu-apoFr ナノ粒子は Cu-apoFr ナノ粒子や還元前の PdCu-apoFr の EXAFS 振動と異なるスペクトルを示していることがわかる。Cu-apoFr ナノ粒子のフーリエ変換スペクトルには 2.2 \AA 付近にピークが認められる。Cu 薄膜にも同様のピークが認められることから、2.2 \AA 付近にピークは Cu-Cu 結合の存在を示していると考えられる。一方で、Cu-apo ナノ粒子試料のピーク強度は Cu 薄膜よりも小さい。このようなピーク強度の減少は先行研究においても同様に報告されている [3]。CuO や $Cu(OH)_2$ には Cu-O 結合によるものであると考えられる 1.5 \AA 付近にピークが認め

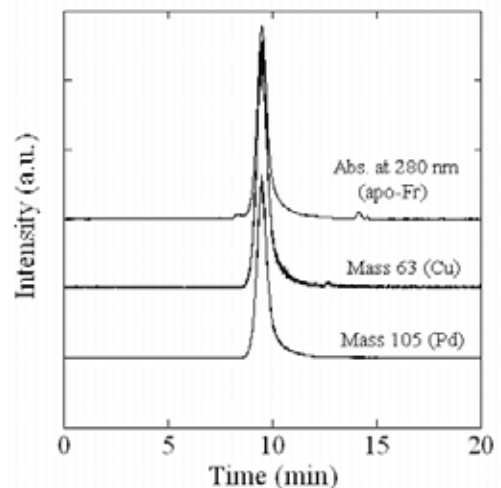


図 2. SEC-HPLC-ICP-MS による Cu-Pd アポフェリチン測定結果。上から順に波長 280 nm の吸光度、Cu 及び Pd の ICP-MS 信号強度

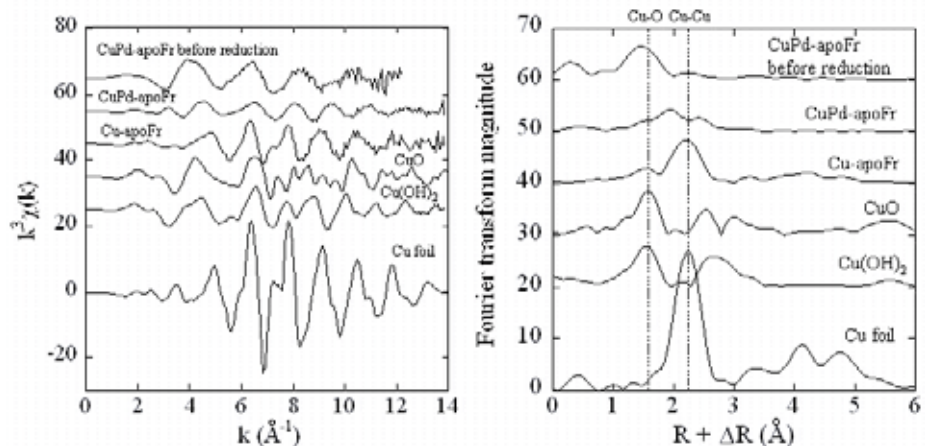


図 3. Cu-K 吸収端 EXAFS スペクトル及びそのフーリエ変換スペクトル

られる。還元前の PdCu-apoFr ナノ粒子にも同様のピークが認められる。これは還元前の試料では Cu は水和イオンとして存在しているためであると考えられる。PdCu-apoFr ナノ粒子は他のスペクトルと異なり、2.0 Å と 2.3 Å のそれぞれに小さなピークが認められる。

Pd-K 吸収端 EXAFS スペクトルの測定結果を図 4 にプロットした。PdCu-apoFr ナノ粒子の EXAFS 振動スペクトルは Pd-apoFr ナノ粒子や還元前の PdCu-apoFr と異なる。Pd-apoFr ナノ粒子と Pd 薄膜のフーリエ変換スペクトルには Pd-Pd 結合に由来するピークが認められる。Cu と同様に apoFr ナノ粒子のピーク強度は薄膜に比べて小さい。これに対して還元前の PdCu-apoFr は 1.5 Å 付近にピークが認められた。本研究では PdO などの標準試料の測定は行っていないが、おそらくこのピークは Pd-O に相当するものと考えられる。PdCu-apoFr ナノ粒子は 2.0 Å から 2.5 Å に幅の広いピークを示した。

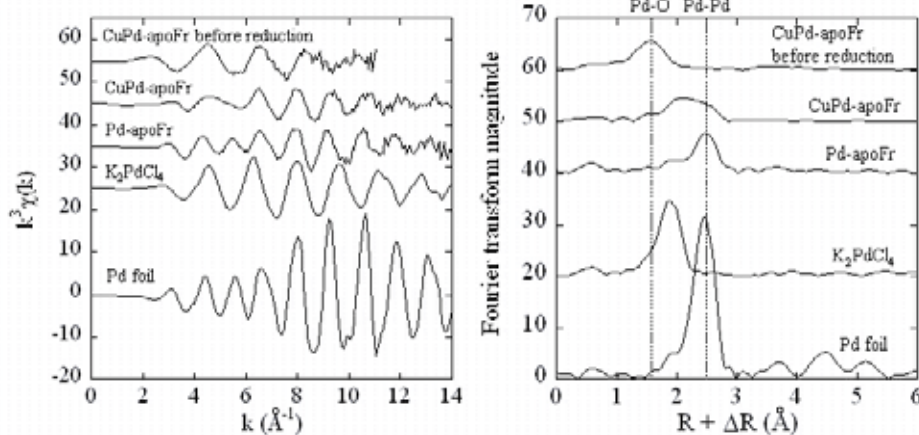


図 4. Pd-K 吸収端 EXAFS スペクトル及びそのフーリエ変換スペクトル

EXAFS スペク

トルの解析結果を表 1 にまとめた。Cu 薄膜と Cu-apoFr ナノ粒子の Cu-Cu 原子間距離は 2.53 Å で一致した。同様に Pd 薄膜と Pd-apoFr ナノ粒子の Pd-Pd 原子間距離も同じ 2.74 Å である解析結果が得られた。これらの結果は、apoFr の籠状分子内で Cu や Pd のナノ粒子が形成すると報告した先行研究の結果を再現していることを示している[1,2]。PdCu-apoFr ナノ粒子は Cu-Cu と Cu-Pd (Cu-K 吸収端)、Pd-Pd と Pd-Cu (Pd-K 吸収端)のそれぞれ二つの結合を考えることで良いフィッティング結果が得られた。Cu-Pd 原子間距離は Cu-K 吸収端(2.55 Å)と Pd-K 吸収端(2.57 Å)ではほぼ同じ結果が得られた。Cu-Cu 原子間距離(2.46 Å)は Cu 薄膜や Cu-apoFr ナノ粒子に比べて 0.07 Å 短い。Pd-Pd 原子間距離も同様に薄膜や Pd-apoFr ナノ粒子に比べて 0.04 Å 短い。これらの結果は形成した Pd-Cu ナノ粒子の構造の歪みを表しているかもしれない。いずれにしても、本研究で得られた EXAFS スペクトル及びその解析結果は TEM により観察された apoFr 内のナノ粒子が Pd-Cu 合金であることを直接的に示す結果である。

表 1. Cu-K 吸収端及び Pd-K 吸収端 EXAFS スペクトル解析結果

	Sample	Bond	N	R (Å)	$\sigma (\times 10^3)$
Cu K-edge	Cu foil	Cu-Cu	11.9	2.53	7.7
	Cu-apoFr	Cu-Cu	4.3	2.53	8.6
	CuPd-apoFr	Cu-Cu	7.4	2.46	24.0
Pd K-edge		Cu-Pd	2.8	2.55	9.8
	Pd foil	Pd-Pd	9.1	2.74	4.8
	Pd-apoFr	Pd-Pd	4.2	2.74	7.9
	CuPd-apoFr	Pd-Pd	2.7	2.70	8.6
		Cu-Pd	4.0	2.57	15.6

今後の課題：

本研究の成果は apoFr がナノ粒子触媒の作製場に適していることを示す重要な成果である。今後は Cu と Pd の割合を変化させて合成した場合のナノ粒子の構造の変化を調べ、より高性能の触媒の可能性を検証していく。

参考文献：

- [1] T. Ueno et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 43, 2527-2530 (2004)
- [2] N. Galvez et al., *Dalton Trans.*, 2492-2494 (2005)
- [3] M. Ceolín et al., *Eur. J. Inorg. Chem.* 795-801 (2008)