

XAFS法による細菌細胞と銀イオンとの相互作用の解明 XAFS studies on the interactions between Ag(I) ions and bacterial cells

小西 康裕, 齊藤 範三
Yasuhiro Konishi, Norizoh Saitoh

大阪府立大学
OSAKA PREFECTURE UNIVERSITY

好気性細菌 E および好気性細菌 L (生細胞、死細胞) を Ag(I)イオン水と接触させた後、Ag-K 吸収端における透過 XAFS を測定した。すべての細胞試料から銀の XANES スペクトルが検出され、生細胞に加えて死細胞も液相 Ag(I)イオンを捕集する機能があることがわかった。さらに、これら細菌に捕集された銀は、細胞構成物質であるアミノ酸と化合して 1 価銀として存在していることがわかった。

キーワード： 抗菌、防臭、銀イオン、XAFS

【背景と研究目的】

銀イオンの抗菌作用に着目し、洗濯布のすすぎの段階で銀イオンをコーティングする洗濯機が商品化されている。しかしながら、銀イオンによる抗菌メカニズムに関しては十分に解明されていない。また、洗濯布に付着しなかった銀イオンはすすぎ水とともに排出されており、排水からの銀イオンの分離・回収は資源循環利用の立場から重要な課題である。

本研究では、好気性細菌と Ag(I)イオンとの相互作用を解明するために、Ag(I)イオン水と接触させた好気性細菌 E および好気性細菌 L (生細胞、死細胞) を対象にして Ag-K 吸収端における透過 XAFS を測定し、細菌細胞内における銀の化学形態について考察する。

【実験】

(1) 微生物試料の調製

AgNO₃ 水溶液に好気性細菌 E および好気性細菌 L の生細胞 (静止細胞) を接種し、60 分後に Ag(I)イオンを作用させた細菌細胞を遠心分離した。その際、一部試料には有機物として乳酸ナトリウムを添加した。嫌気環境下での実験は窒素ガス雰囲気中で行った。次に、分離・回収した細菌細胞を NaNO₃ 溶液で洗浄し、その細胞懸濁液を長さ 5cm のガラス管に封入して XAFS 測定に用いた。なお、細胞懸濁液中の Ag 濃度は最大で 700 ~ 800 ppm であった。

好気性細菌 E および好気性細菌 L の死細胞に対しても、生細胞の場合と同様に、Ag(I)イオンを作用させた。その後、溶液から細胞を回収・洗浄し、真空乾燥機で乾燥させたものを錠剤成型し、

XAFS 測定に用いた。

(2) XAFS 測定条件

透過法 (クイックスキャン測定)

データ取り込み間隔 : 0.3~0.4 eV

エネルギー分解能 (データ処理後) : 0.3~0.4 eV (XANES)

スキャン速度: 5.8 eV/s

エネルギー校正: 金属 Ag のスペクトルで、エッジジャンプの midpoint を 25.517 keV とした。

【結果および考察】

好気性細菌 E および好気性細菌 L (生細胞、死細胞) に関する全試料の XANES スペクトルを図 1 に示す。細菌 L を用いた場合、Ag(I)イオンを捕集した細菌の状態 (生細胞、死細胞) によって、XAFS 測定結果には差異が認められなかった。細菌 L の全試料に対する XANES スペクトルは、表 1 に示すように、塩基性アミノ酸銀 (アルギニン銀 (Arg-Ag), イミダゾール銀 (Imid-Ag), リシン銀 (Lys-Ag)) が 80%程度、AgNO₃ (aq) が 20%程度の組み合わせで合成したスペクトルと一致した。細菌 E の生細胞を用いた場合には、塩基性アミノ酸銀が 70%、AgNO₃ 水溶液が 30% 程度の組み合わせで XANES スペクトルを良好に相関できた。したがって、細菌 E および細菌 L に作用した銀は、主に細胞構成物質である塩基性アミノ酸と化合して 1 価銀 Ag(I) として存在していることが明らかになった。ただし、細菌 E の死細胞を用いた場合、他の大部分の試料に比べて XANES スペクトル全体が 2~3 eV 高エネルギー側にシフトしたが、そのスペクトルの形状は他の大部分の試料のものと酷似していた。この原因としてゴニオメータまたはエンコーダーに誤差が生じた可能性もあるので、次回の実験で再測定を行って原因を解明したい。

表 1 細菌 E および細菌 L (生細胞、死細胞) に捕集された銀の化学形態と存在割合
【Ag(0), AgNO₃, Ag₂O, Ag₂S, AgCl, 含硫アミノ酸 (システイン銀)、塩基性アミノ酸 (Arg-Ag, Imid-Ag, Lys-Ag) の合成スペクトルによるカーブフィッティング (相関係数 0.999)】

	細菌の状態	有機物の存在	雰囲気	銀の存在形態と存在割合 (%)					
				Ag(0)	AgNO ₃	Ag ₂ O	AgCl	含硫アミノ酸	塩基性アミノ酸
細菌 L	死細胞	乳酸塩	好気性	0	20	0	0	0	80
	生細胞	なし	好気性	0	19	0	0	0	81
	生細胞	乳酸塩	好気性	0	21	0	0	0	79
	生細胞	なし	嫌気性	0	19	0	1	0	80
	生細胞	乳酸塩	嫌気性	0	22	0	0	0	78
細菌 E	死細胞	なし	好気性	0	6	0	3	10	81
	死細胞	乳酸塩	好気性	0	0	14	0	25	61
	生細胞	なし	好気性	0	27	0	0	0	73
	生細胞	乳酸塩	好気性	0	24	0	0	0	76
	生細胞	なし	嫌気性	0	27	0	0	0	73
	生細胞	乳酸塩	嫌気性	0	32	0	0	0	68

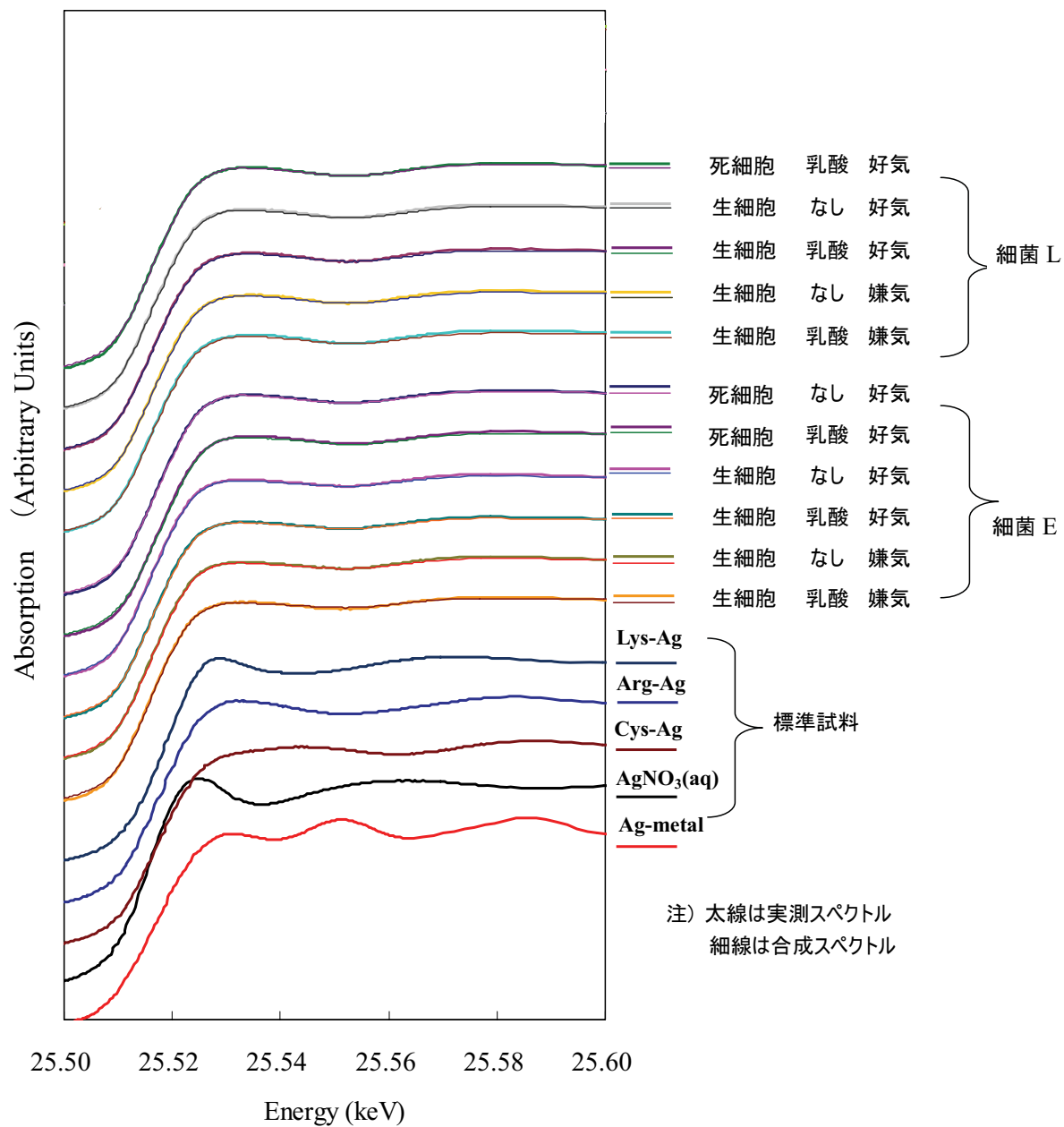


図1 Ag(I)イオンを捕集した細菌細胞に対する銀の XANES スペクトル
(細菌細胞の状態、液相での有機物（乳酸塩）の有無、嫌氣的・好氣的環境の影響)