

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25550060

研究課題名(和文) プロティストを用いた放射性セシウムの土壌からの抽出・吸収・減容システムの構築

研究課題名(英文) Construction of an energy cost advancing system for decontamination and volume reduction of contaminated soils using protists

研究代表者

岩本 浩二 (Iwamoto, Koji)

筑波大学・企画室・准教授

研究者番号：40311592

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、汚染土を亜臨界水処理することで効率的に放射性セシウムが遊離可能であり、また遊離した放射性セシウムを新規真正眼点藻*Vacuoliviride crystalliferum*や温泉紅藻*Galdieria sulphuraria*などの高度セシウム吸収能力を有するプロティストに吸収させることで、エネルギーコスト的に優れた除染・減容システムが構築できることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：This study showed the possibility to establish an energy cost advancing system for decontamination and volume reduction of contaminated soils using protists. In the system, radioactive cesium would be released by subcritical water treatment from the contaminated soils and the radionuclide would be absorbed by protists such as *V. crystalliferum* and *G. sulphuraria*.

研究分野：植物代謝生理学

キーワード：亜臨界水処理 電気浸透 微細藻類 セシウム遊離 ファイトレメディエーション

1. 研究開始当初の背景

2011年3月11日に発生した東日本大震災において、地震や津波などにより家屋はもとより、道路や橋、電気、水道などのインフラなどの損壊は大きく、福島第一原子力発電所においても電源喪失により原子炉の冷却システムが失われ、水素爆発等により放射性物質が環境に放出された。その総放射能量は1 EBq (1 EBq (エクサベクレル) は、10の18乗 Bq) を越える莫大なものと推定されている¹⁾。その内、セシウム、ストロンチウムおよびヨウ素は生物により吸収されやすい親生物性の元素であり、もし、それらが人体に取り込まれた場合、内部被曝により健康への影響も懸念されることから、その挙動は事故直後から特に問題とされた²⁾。ただし、ヨウ素に関しては、放出されたヨウ素核種の中で一番長い半減期を持つヨウ素131にしても8日程度であり4年経過した現在では、既に検出限界以下に減衰していると考えられる。またストロンチウムについては、(1) 放射性ストロンチウム自体の総放射量が2.1 PBqとセシウムの1/10以下であること、(2) その内2 PBqは物理的半減期が50.5日のストロンチウム89であり既に放射能は減衰し、残りのストロンチウム90が量的に少ないこと^{1) 3)} 準揮発性の元素であるため飛散範囲が少ないこと、(4) ストロンチウム89および90は線核種であり放射線強度が弱く、核種の混合状態では測定値データが単独で測定され難いこと等が挙げられる。一方、セシウムについては放出総量が20~30 PBqと比較的大量であったこと¹⁾、それぞれの物理的半減期が2.1年および30.0年と長寿命であり、環境に長くとどまること等で、最も注意すべきものとされている。さらにはセシウムは揮発性化合物へと変化しやすく、放射能を帯びたそれらの化合物の飛散は、福島県を中心に、岩手県、宮城県、茨城県、群馬県、栃木県、埼玉県および千葉県に及び、この内居住が制限される避難指示区域だけでも1,150 km²にわたる⁴⁾。そのため、放射性セシウムの除去が復興に向けての大きな課題となっている。

一方、放射性セシウムの多くは地表10cm以内の土壤にとどまっている⁵⁾。これはセシウムが、粘土表面に反不可逆的に強く結合する性質があることに起因する。そのため、表土剥離による除染が行われているが、発生する汚染土壌は膨大であり、仮置き場を確保するにも困難を極めていた状態にある。しかし、放出された放射性セシウムの放射線量は膨大であるが、それらの物質質量(重量)はそれほど多くない。それぞれの核種の総重量(W、g)は、放出総ベクレル数(B)と半減期(T、時間) および原子量(M)から次式を用いて計算される⁶⁾。

$$W = B \times 8.62 \times 10^{21} \times M \times T$$

その結果、最も放出重量が多いと見積もられるセシウムでもその総物質質量は5 kg程度に

過ぎない。

現在まで、土壌からのセシウムの抽出方法として、高温処理や強酸処理が考えられている。しかし、先に述べたように質的にわずかな物質が大量の汚染土等に含まれることから、これらの方法は、特に中低レベル汚染土についてはコスト的に現実的ではなく、低コスト・省エネルギーの除染・減容方法が求められている状態にある。

近年、環境汚染など大規模、低濃度の汚染の修復にはコストや吸収効率の観点から「バイオレメディエーション」と呼ばれる生物を用いた手法が注目されている。その中でも植物や藻類・プロティストを用いた「ファイトレメディエーション」では生物の濃縮活性を活用するため、化学処理に比較してコスト面で有利なこと、プロティストの細胞自体が有機物からなるため、焼却による灰化による減容が容易であることなど、積極的にその技術開発がなされている。

2. 研究の目的

本研究グループでは1) 増殖速度が速く回収効率が良い、2) 独立栄養生物のため増殖のためのエネルギー投入が少なく済む、3) 生物濃縮により高効率の回収が見込まれる、4) 種によっては自然沈殿等を利用した低コスト回収が可能、5) 単細胞もしくは体制が柔らかく、コンパクト化が可能なので減容化が見込まれるなどの利点を持つ藻類や水生植物に着目し、これらの生物を用いた放射性物質回収システムの構築を目的として研究を行った。

特に、汚染土からのセシウムの遊離に強酸による遊離・融解や高温での昇華など物理的・化学的手法が提案されているが、いずれもコストや環境負荷の点で大規模に実施するには障害が大きい。特に人工的な酸処理では、酸の調達および廃液に係わるコストと環境負荷が大きい。そこで、酸性温泉水処理によるセシウム遊離を試みた。また、環境に優しい処理技術として亜臨界水処理および電気浸透法による遊離も検討した。

また、本研究グループでは遊離した放射性セシウムの回収においては、既に新規真正眼点藻 *Vacuoliviride crystalliferum* が高度にセシウムを吸収・濃縮する能力を有することを明らかにしている。さらには温泉紅藻の *Galdieria* 属から高いセシウム吸収活性が報告されていることから、これらの藻類・プロティストにおけるセシウムの吸収に関する解析を行うと共に、最適な増殖条件を検索した。また新規真正眼点藻 *V. crystalliferum* については系統的解析も行った。

3. 研究の方法

(1) 藻類・プロティストの培養

真正眼点藻 *V. crystalliferum* は基本的にAF6培地を用いて、温度20°C、光強度100 μmol photons · m⁻² · sec⁻¹で培養し、実験によ

り温度や光条件等を変化させた⁸⁾。特にセシウムの取り込み実験の際にはカリウムを除去した AF6 培地を用いた。

温泉紅藻 *Galdieria sulphuraria* は基本的に改変アレン培地を用いて、温度 45°C、光強度 70 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ で培養し、実験により暗黒下やグルコースを 25 mM 添加下で培養した⁸⁾。

(2) 放射性物質・汚染土

茨城県北部で採集した土壌を、水簸(すいひ)法により粘土成分を分取し汚染土とした。人工放射性物質として $^{137}\text{CsCl}$ (Specific activity, 61.7 GBq mmol $^{-1}$; Eckert and Ziegler Isotope Products, Valencia, CA, USA)を用いた。

(3) 温泉水

温泉水は福島県沼尻温泉より採取した。

(4) セシウムの吸収能力検定

藻類・プロティスト株はあらかじめ培養を開始しておき、放射能除去実験を行う前日に新鮮な培地に植え継ぎ準備した。培養を継続し、それらの微細藻類懸濁液に所定量の放射性セシウム Cs-137 を添加し、放射性物質除去実験を開始した。一定時間後に細胞懸濁液を 0.1 mL サンプルングし、シリコンオイルレイヤー遠心法により培地と細胞を分離して、培地画分および細胞画分に含まれる放射活性を線カウンター (Cobra II, パカード) で測定した⁹⁾。

4. 研究成果

(1) 土壌からの放射性 Cs の抽出

土壌からの放射性 Cs の抽出には電気浸透法と亜臨界水処理法を検討した。電気浸透法については、際だった効果は認められなかった。一方、亜臨界水処理では、マイカやゼオ

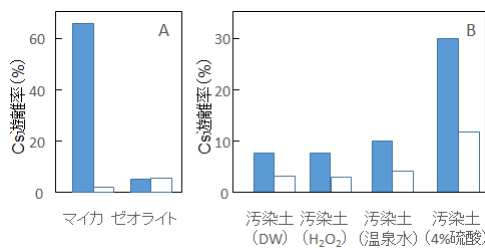


図1. 亜臨界水処理による Cs の遊離 A: マイカおよびゼオライトに吸着させた Cs-137 の遊離. B: 汚染土からの放射性セシウムの遊離. 処理あり、 処理なし.

ライトに吸着させた Cs-137 を福島県沼尻温泉から採取した酸性温泉水 (温泉水: pH 1.9) で処理したところ、特にマイカで約 60% の遊離が確認された (図 1A)。そこで福島県南部で採取した汚染土において亜臨界水処理の効果を確認したところ、抽出に用いた純水 (DW) 3% 過酸化水素水 (H₂O₂) 温泉水、

4% 硫酸いずれにおいても、未処理を行わなかった試料に比べて 2 倍以上の抽出効率があることが分かった (図 1B)。

以上の結果から、亜臨界水処理を用いることで Cs を遊離できる可能性が示された。

(2) 藻類・プロティストによるセシウムの吸収

G. sulphuraria によるセシウム吸収

温泉紅藻 *G. sulphuraria* のセシウム吸収能力を検定したところ、10 日間で培地に与えた放射性セシウムを 50% 以上の除去する能力を有することが明らかとなった (図 2)。特に pH 5.5 より pH 2.5 での除去率が高く、酸性度がより高い条件が好ましく、そのため酸性の汚染土もしくは酸性温泉水等で処理した汚染土から抽出したセシウムを除去する場合に適していると考えられる。

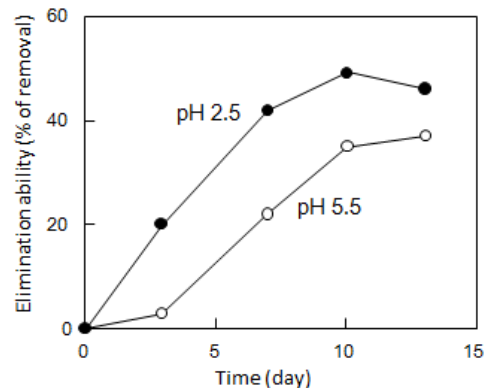


図2. 温泉紅藻 *G. sulphuraria* によるセシウムの取り込み。混合栄養条件で pH 2.5 (●)、および pH 5.5 (○) で培養。

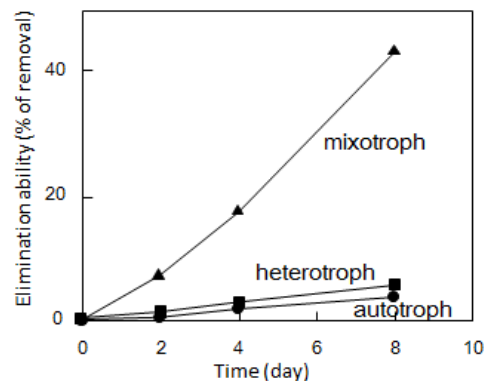


図3. 温泉紅藻 *G. sulphuraria* によるセシウムの取り込み。●: 独立栄養条件、○: 混合栄養条件、□: 従属栄養条件。

また、*G. sulphuraria* のセシウム吸収条件を検討したところ、独立栄養条件 (改変アレン培地で照明下で培養) および従属栄養条件 (25 mM グルコースを添加した改変アレン培地で暗黒下で培養) ではほとんど活性が見られなかったが、混合栄養条件 (改変アレン培地で照明下で培養) で高い取り込みが確認

された (図 3)。

真正眼点藻 *V. crystalliferum* によるセシウム吸収

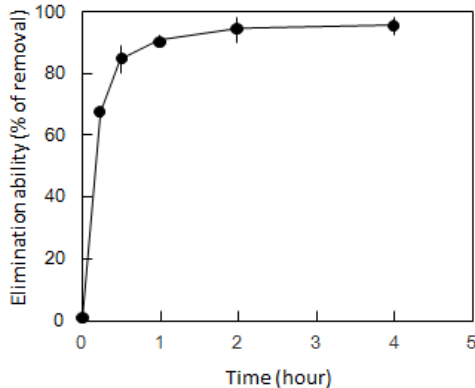


図 4 . 真正眼点藻 *V. crystalliferum* によるセシウムの取り込み。

新規真正眼点藻 *V. crystalliferum* のセシウム吸収能力を検定したところ、セシウム添加後 15 分後には 67%、30 分後には 85% の放射活性が培地から除去され、4 時間後には 95% が除去されるという急激な活性が示された。15 分までの取り込み速度は $6.3 \text{ mg Cs} \cdot \text{mg Chl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ であった (図 4)。

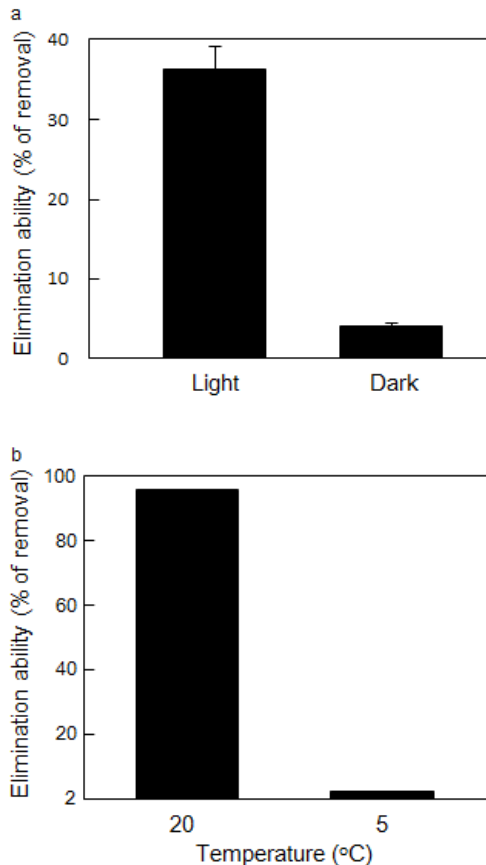


図 5 . 真正眼点藻 *V. crystalliferum* のセシウムの取り込みにおける光 (a) と温度 (b) の影響。実験開始後から 4 日後に測定。

本藻のセシウム取り込みに機構について解析するため、暗黒下および低温下での活性を調べた。その結果、暗黒下や低温下ではセシウムの取り込み活性が著しく低下した (図 5)。さらに、細胞を凍結乾燥した標品では放射性セシウムの吸着は認められなかった (data not shown)。これらの結果から、本藻のセシウム取り込みは細胞表面等への吸着ではなく、細胞内への能動的な吸収であることが明らかとなった。

本藻のセシウム吸収機構についてさらなる情報を得るため、そのキネティクスを調べた。その結果、セシウム吸収はそれぞれ 32.9 nM と 663 nM という親和性の高い吸収と親和性の低い吸収の 2 つの成分により吸収されることが解った。

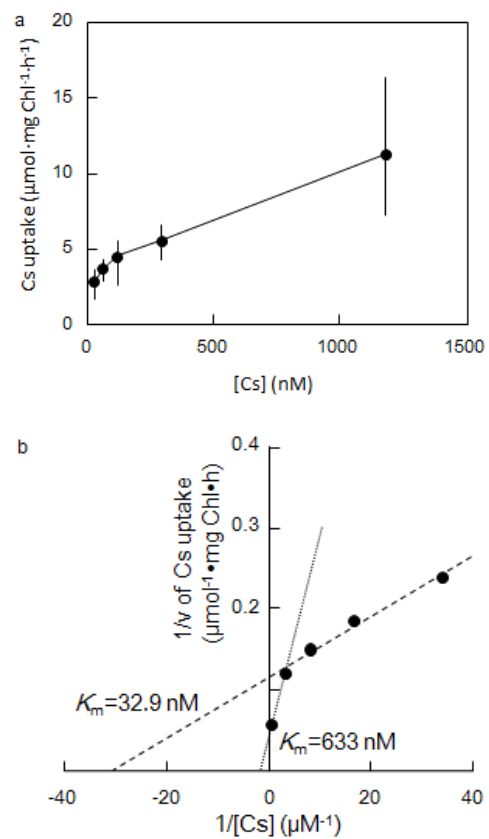


図 5 . 真正眼点藻 *V. crystalliferum* によるセシウム吸収キネティクス。a : 濃度-吸収速度プロット、b : Lineweaver-Burk プロット。セシウム添加後 1.5 時間後に測定。

ところで、一般的にセシウムはカリウムの類似体であり、セシウムの吸収はカリウムの存在により著しく阻害されることが知られている。そのため、本藻のセシウム吸収におけるカリウムの影響を調べたところ、吸収活性は $500 \mu\text{M}$ カリウム添加で 90% 阻害されることが解った。また、その IC50 値 (50% の阻害を与える濃度) は約 $20 \mu\text{M}$ であった。

(3) 真正眼点藻 *V. crystalliferum* の増殖特性の解析

温度

本藻を用いた除染減容システムを構築す

るために本藻の至適増殖条件を明らかにした。先ず、増殖温度については 5、10、15、20、25、35 の 6 点で培養し、その増殖能力を検定した。その結果、35 でも良好な増殖を示し、また低温においても 15 で 35 の 50% 程度の増殖能が得られたことから、本藻は幅広い温度に対して生存および増殖が可能であることが明らかとなった。

光

本藻の増殖における光量の影響について、2、200、500、1000、1500 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ における増殖能力を検定したところ、1000 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ をピークに 500 ~ 1500 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ になだらかなプラトーを描くことが解った。また、2 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ でも至適条件の 10% 程度の増殖能力を有していた。これらの結果は本藻は 1500 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ という強光に対してほとんど強光阻害を受けず、弱光から強光という幅の広い光条件に対応することが可能であるということを示している。

pH

本藻の増殖における pH の影響について情報を得るため、pH 3、5、7、8、9、10、11 の各点において培養し、その増殖能力を検定したところ、pH 10 にかけて直線的に増殖能力が増加し、pH 10 を越えると急激に増殖能が低下することが解った。この結果は、著しく高い pH を除き、本藻は酸性条件からアルカリ性条件まで幅の広い pH 範囲に適應して増殖が可能であることを示すものである。

塩濃度

本藻の増殖における塩濃度の影響を検定した。本藻を塩濃度 0.3%、0.6%、1.2%、1.5%、1.8%、2.4%、3.0% (それぞれ海水の 10%、20%、40%、50%、60%、80%、100% に相当) 存在下で培養したところ、0% から 1.5% まで増殖のピークであった塩濃度 0.6% に対して 80% 以上の増殖を保ち、その後なだらかに増殖が低下し、塩濃度 3% ではピークの 40% 程度の増殖を保持した。この結果から本藻は幅の広い塩濃度環境下でも増殖が可能であることを示している。

(4) 真正眼点藻 *V. crystalliferum* の系統分類学的解析

本研究で用いた真正眼点藻 *V. crystalliferum* は光学顕微鏡の観察から、新規の真正眼点藻であることが示唆されている。そこで、本藻について系統分類学的により詳細に解析した。本藻は直径 15 μm 程度の細胞内に大型の気泡を有する球形もしくはだ円形の形状をしている。また本藻は細胞内に赤色の顆粒と「竹ばさみ」状の構造体を有していた (図 10)。既知の真正眼点藻でこれらの形質を有する属および種は報告されていないこと、

さらには 18s rDNA の配列から本藻は真正眼点藻綱に含まれることから、本藻を真正眼点藻の新属新種として記載した¹⁰⁾。

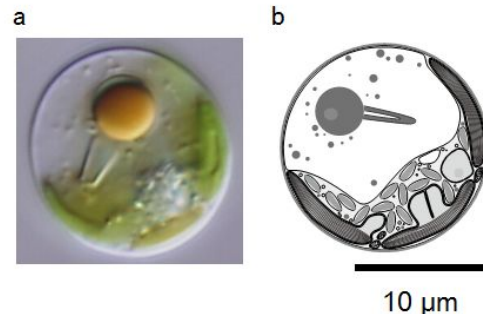


図 10 . 真正眼点藻 *V. crystalliferum* の増殖における pH の影響。藻体は 20 で 17 日間培養。複数の独立した実験における塩濃度 0.6% (20% 海水に相当) での増殖を 100% として標準化した。17 日後の 750nm における吸光度はおおよそ 1.4 であった。

(5) 藻類・プロティストを用いた除染・減容システム

本研究により、亜臨界水処理により土壌より放射性セシウムを遊離させ、それを温泉紅藻 *G. sulphuraria* や新規真正眼点藻 *V. crystalliferum* により吸収させることで低コストの除染・減容システムが構築可能であることが示唆された。

亜臨界水処理においては遊離効率を高める温度および圧力、時間等の条件検討を更に行う必要があるが、抽出の際に酸性温泉水を用いることでより遊離効率が高まることが解った。この場合、遊離された放射性セシウムは本研究で明らかにされた温泉紅藻 *G. sulphuraria* の放射性セシウム吸収能力を用いることで中和することなく連続して培養を行い、除染と減容できることが示唆された。

また pH 3 以上であれば新規真正眼点藻 *V. crystalliferum* を用いることも考えられた。本藻は、極めて高いセシウムの吸収能力を有することが本研究で明らかになった。さらには温度条件、光条件、pH 条件、塩濃度条件いずれも幅の広い条件でも生育する能力を有することも明らかにされたことから、培養時にそれらのファクターを制御する必要が無く、エネルギーコスト的に非常に優れた除染システムの構築が可能である。本藻のセシウム吸収はカリウムイオンの存在により阻害されるが、セシウムに対する親和性が 30 nM 程度であるのに対して、カリウムによる IC50 値は 20 μM とおおよそ 1000 倍も異なるため、カリウムによる吸収阻害が顕著になるような条件では、希釈やあるいはカリウム除去のために別の微細藻類の培養を挟むことで回避することも考えられる。

一方、現在も福島第一原子力発電所の原子炉建屋やタービン建屋には大量に高濃度汚染水が残存し、また原因は不明ながらも放水路の放射性セシウム濃度が上昇するという

事象も発生している。これらの汚染水中の放射性セシウムが可溶化された状態であれば、汚染水を培養液として使用し、新規真正眼点藻 *V. crystalliferum* を大量培養することによって、放射性セシウムを藻類細胞内に濃縮し、藻類細胞を収穫後、回収した藻類細胞を灰化することにより、放射性セシウム汚染体を減容化することが可能ではないかと考えられた。

<引用文献>

経済産業省プレスリリース平成 23 年 10 月 20 日,
<http://www.meti.go.jp/press/2011/10/20111020001/20111020001.html>

A. Betsy. *et al.*, Evolution of approaches in conducting total diet studies. *J. Appl. Toxicol.*, 32, 765-776 (2012).

M. Chino *et al.*, Preliminary estimation of release amounts of ¹³¹I and ¹³⁷Cs accidentally discharged from the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant into the atmosphere. *J. Nucl. Sci. Tech.* 48, 1129-1134 (2011)

文部科学省, 原子力損害賠償紛争審査会 (第 35 回) 配付資料,
http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/chousa/kaihatu/016/shiryo/_icsFiles/afiedfile/2013/10/02/1340046_4_2.pdf

斎藤公明ほか, 土壌中における放射性物質の深度分布の確認. 日本原子力研究開発機構 平成 23 年度放射能測定調査委託事業「福島第一原子力発電所事故に伴う放射性物質の第二次分布状況等に関する調査研究」成果報告書 2-3 (2011)

川瀬雅也, あらためて放射性物質を復習しよう- 放射線化学者からの基礎知識. 化学, 66, 37 (2011).

Fukuda *et al.*, Global searches for microalgae and aquatic plants that can eliminate radioactive cesium, iodine and strontium from the radio-polluted aquatic environment: a bioremediation strategy. *J. Plant Res.*, 127: 79-89 (2014).

河地 正伸, MCC-NIES 保存株リスト第 9 版, p421, 独立行政法人国立環境研究所 (2013).

T. Obata *et al.*, Bioconcentration mechanism of selenium by a coccolithophorid, *Emiliania huxleyi*. *Plant Cell Physiol*, 45, 1434-1441 (2004).

T. Nakayama *et al.*, Taxonomic study of a new eustigmatophycean alga, *Vacuoliviride crystalliferum* gen. et sp. nov. *J. Plant Res.*, 128: 249-257 (2015).

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 2 件)

Fukuda, S., Iwamoto, K., Atsumi, M., Yokoyama, A., Nakayama, T., Ishida, K., Inouye, I. Shiraiwa, Y. Screening of microalgae and aquatic plants that can eliminate radioactive cesium, iodine and strontium by bioaccumulation from radio-contaminated aquatic environment. *Journal of Plant Research* 127: 79-89. (2014)

Nakayama, T., Nakamura A., Yokoyama, A., Shiratori, T., Inouye, I., Ishida, K. Taxonomic study of a new eustigmatophycean alga, *Vacuoliviride crystalliferum* gen. et sp. nov. *J. Plant Res.*, 128: 249-257 (2015).

[学会発表](計 2 件)

中村 篤史、横山 亜紀子、中山 剛、岩本 浩二、石田 健一郎、井上 勲. 高度セシウム吸収藻 nak-9 株の分類学的研究. 日本植物学会第 77 回大会(札幌). 2013 年 9 月.

Iwamoto, K., Fukuda, S., Atsumi, M., Yokoyama, A., Nakayama, T., Ishida, K., Inouye, I., Shiraiwa, Y. (2014) Elimination of Radionuclides Released from the Fukushima 1 Nuclear Power Plant by Microalgae. Malaysia-Japan Joint Symposium on Biomass, Bioenergy and Water Environment for Development of Sustainable Society. Oct 30-31, Kuala Lumpur, Malaysia.

[図書](計 1 件)

岩本浩二、白岩善博: 放射性セシウム、ストロンチウムおよびヨウ素の除去に貢献する「藻」について. 「放射線遮蔽」、「放射性物質吸収・分離」、「除染」に関する材料、設備、測定-最新技術便覧、技術情報協会(印刷中)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩本 浩二 (IWAMOTO, Koji)

筑波大学・企画室・准教授

研究者番号: 40311592

(2) 研究分担者

石田 健一郎 (ISHIDA, Ken-ichiro)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号: 30282198