

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月26日現在

機関番号：24403

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：平成22年度～平成24年度

課題番号：22656146

研究課題名（和文） 植物プロセスを利用したナノ材料創製と環境浄化

研究課題名（英文）

Synthesis of nanomaterial and environmental purification by botanical process

研究代表者

中平 敦 (NAKAHIRA ATSUSHI)

大阪府立大学・工学研究科

研究者番号：90172387

研究成果の概要（和文）： 植物プロセスを利用したナノ材料創製が試みられた。クワの葉を用いたファイトレメディエーションへの可能性を明らかにできた。特にクワの葉の異形細胞内の Sr や亜鉛の細胞内区画化が調査された。このナノマテリアルを用いたファイトレメディエーションプロセスを用いて環境浄化の試みを進めた。

研究成果の概要（英文）：

Syntheses of nanomaterial were attempted by the botanical process. The possibility of botanical process, i.e. phytoremediation, was clarified for mulberry. In special, subcellular compartmentation of strontium and zinc was investigated in mulberry idioblasts in relation to phytoremediation potential. Using these nanomaterials through phytoremediation process, the development of the environmental purification was carried out.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
22年度	1300000	0	1300000
23年度	1000000	300000	1300000
24年度	900000	270000	1170000
年度			
年度			
総計	3200000	570000	3770000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：5402・無機材料物性

キーワード：植物、ナノ材料、環境浄化、ファイトレメディエーション

### 1. 研究開始当初の背景

現在、重金属汚染された土壤環境や水環境の浄化が多方面で求められている。また、原発事故以降、放射性物質の浄化除染の技術開発も重要なテーマである。

環境浄化には種々の吸着材利用など多様なプロセスがあるが、植物を用いたファイトレメディエーションもまた、その浄化プロセスとして有用であり、さらに環境低

負荷なプロセスの側面からは今後ますます有望なプロセスである。また、無機成分が、動物、植物、微生物などの生物体内において、集積・沈着し、無機固体化して蓄積することは、**Biom mineralization** として良く知られ、このプロセスを用いた材料合成やさらに環境浄化への展開も期待される。例えば、磁性細菌などではサイズの揃ったナノ磁性粒子が生成され、ナノ粒子生

成プロセスのためのバイオミネティックプロセスの1つとして注目されてきた。

代表者はアパタイトなどのバイオセラミックスのバイオミネティック研究を長らく進め、さらに、共同研究者の杉村は、クワ科植物において  $\text{CaCO}_3$  結晶が葉に多量に蓄積することを明らかにした [Protoplasma, 231,123 (2007)]。

単一の cell wall sac 内で形成・蓄積する  $\text{CaCO}_3$  量は約 120 ng であり、極めて高 Ca 蓄積能力を持ち、葉の乾燥重量当たり、 $\text{CaCO}_3$  含量は 3~5% に達する。クワ葉による Biom mineralization では、常圧、室温域で環境中の Ca イオンが濃縮され、不溶性無機ナノ粒子として集積する環境低負荷なナノ材料合成プロセスであり、極めて低濃度系でかつ広範囲に利用可能という利点を持つ。さらにクワ科植物は成長も早く、植生可能な地域も広いという利点を持つ。また Ca の集積と共に  $\text{CO}_2$  固定にも寄与できるので、 $\text{CO}_2$  固定技術の一つとしても期待できる。また、クワ葉では Ca 集積以外に Cd 蓄積植物の場合、Cd イオンが細胞内に取り込まれ、メタロチオネインなどのタンパク質により無毒化される。本対象とするクワ科において金属イオンの不溶化が Ca イオンのみに限定されているかは未だ未知であるが、得られる  $\text{CaCO}_3$  の構造解析ならびに濃縮メカニズムの解明を進める事が出来れば、その知見によって金属イオンの不溶化を引き起こす Biom mineralization システムが Ca 以外の金属イオン (重金属や希土類元素等) でも展開できるプロセス開発に繋がると期待されており注目を集めている。

植物を介して有害重金属或いは有価金属イオンを固定 (濃縮捕集) するファイトレメディレーションは、環境低負荷プロセスを確立する研究は、今後も重要な研究分野であり、土環境・水環境からの金属イオン回収と同時に炭酸固定化技術の一端ともなり、有価金属資源回収と同時に水環境の浄化に利用できると期待されている。

## 2. 研究の目的

クワ葉によるファイトレメディレーションでは、常圧、室温域で環境中の Ca イオンが濃縮され不溶性無機ナノ粒子として集積するため、Biom mineralization は環境低

負荷なナノ材料合成プロセスであり、極めて低濃度系でかつ広範囲に利用可能という利点を持つ。さらにクワ科植物は成長も早く、植生可能な地域も広いという利点を持つ。また Ca の集積と共に  $\text{CO}_2$  固定にも寄与できるので、 $\text{CO}_2$  固定技術の一つとしても期待できる。Ca 集積以外に Cd 蓄積植物の場合、Cd イオンが細胞内に取り込まれることから、クワの木はファイトレメディレーションの一環として、有害物質で汚染された自然環境の浄化に寄与できる可能性もある (図 1)。

そこで本研究ではクワ葉にて Ca イオン濃縮された  $\text{CaCO}_3$  の構造評価とメカニズム解明を主たる目的とした。本研究課題を達成するために、以下のような①~③の確立を目指して研究を実施した。

- ① クワの水耕栽培技術の確立
- ② 生成物の解析評価実験の確立
- ③ 回収無機サンプルの解析評価の確立

## 3. 研究の方法

上記の目的を達成するために以下のように、それぞれの要素技術の確立を目指した。

### ① クワの水耕栽培技術の確立

実験植物として、クワ樹 (*Morus alba*) を用いた。実用的な観点を考慮し、これまでの重金属耐性植物に関する研究と異なり、水耕栽培したクワ若木を用いた。クワの水耕栽培事例は極めて少なく、果樹などで開発された水耕培養組成を基に、発芽苗から若木になるまで栽培できるようにプロセス開発を進めた。

### ② 生成物と回収された無機サンプルの解析評価実験の確立

クワ葉に存在する cell wall sac 内に Ca が蓄積した無機固体を分離・回収し、その構造解析を結晶構造学的アプローチにて評価した。まず、エネルギー分散型 X 線装置 (EDX) を搭載した走査電顕 (SEM) を用いて、クワ葉に存在する cell wall sac 内に金属結晶が蓄積した無機固体を分離・回収し、その結晶構造や局所微細構造について X 線回折 (XRD)、透過型電顕 (TEM)、X 線光電子分光 (XPS)、X 線吸収微細構造 (XAFS) により解析した。特に、アモルファス構造は XAFS により解明し、アモルファスからの結晶化過程を明らかにする。結晶粒子を分離するためにプロテアーゼな

どの酵素で組織崩壊させて分離した。

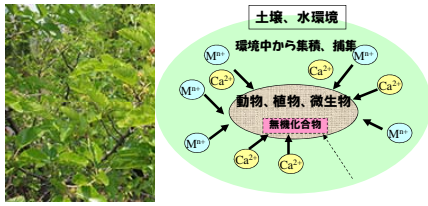


図 1 クワの葉を用いたファイトレメディケーション

細胞生物学的アプローチとしては、蛍光プローブで標識し、cell wall sac 内へのイオンの集積濃度が可視化した。また、原子吸光分析により、葉体内に取り込まれた重金属量なども定量する。薬害発生がない水耕栽培条件での最大許容蓄積量を評価した。

#### 4. 研究成果

実験植物として、クワ樹 (*Morus alba*) を対象とした。実用的な観点を考慮し、これまでの重金属耐性植物に関する研究と異なり、クワ若木を水耕栽培して用いた。本研究では植物プロセスを利用したナノ材料創製とその環境浄化への展開を目標とした基礎研究を目指したが、クワ類の水耕栽培事例は極めて少ないので、果樹などで開発された水耕培養組成を基に、発芽苗から若木になるまで水耕栽培を利用して栽培できることを確認し、クワの木を試料を回収できた。実用的な水耕栽培技術の確立できたことから水耕法によるクワ栽培プロセスを確立できた。実用的な観点を考慮し、これまでの土壌を利用した重金属耐性植物に関する研究と異なり、水耕栽培したクワ若木を用いる実験を進め、その確立できたことから、本研究展開の今後の展開並びに類似の研究への重要な知見となった。

図2に示すように、 $\text{CaCO}_3$  の結晶化と蓄積部位は、葉の表皮組織にある巨細胞の細胞壁が陥入して形成される袋状構造体

(cell wall sac) において集積蓄積する結果であり、水耕中の Ca イオンが、クワ葉に存在する cell wall sac 内に Ca が濃縮・蓄積した。次いで cell wall sac 内に蓄積した無機固体を分離・回収し、その構造解析を X 線回折 (XRD)、X 線吸収微細構造 (XAFS) にて進めた。その結果、X 線吸収微細構造 (XAFS) 解析から、カルシウム化合物の微細構造が解明できた。図3に Ca-K 殻にお

ける XANES スペクトルを示す。クワの葉の cell wall sac 内で濃縮された Ca 塩は、シュウ酸カルシウムのスペクトルと類似であったが、一部炭酸カルシウムのカルサイト類似の構造も含まれていた。

このような知見を得ることから、クワの葉を用いたファイトレメディケーションへの可能性を明らかにできた。クワ葉による Biomining では、常圧、室温域で環境中の Ca イオンが濃縮され不溶性無機ナノ粒子として集積する環境低負荷なナノ材料合成プロセスであり、極めて低濃度系でかつ広範囲に利用可能という利点を持つ。さらにクワ科植物は成長も早く、植生可能な地域も広いという利点を持つ有用なプロセスとして期待される。

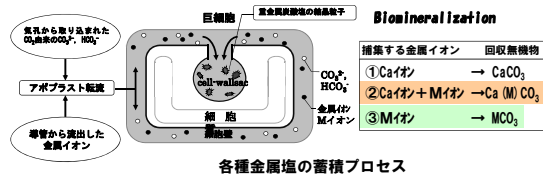


図2 クワの葉内の Ca の濃縮プロセス

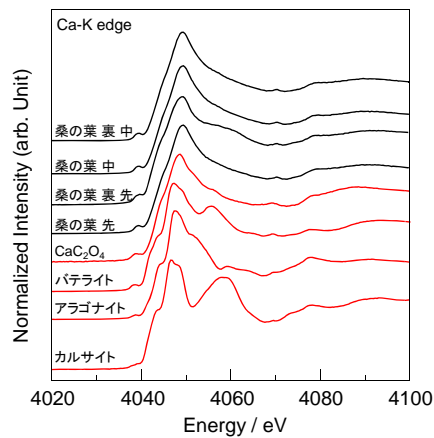


図3 クワの葉内の Ca-K 殻の XANES

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

- ① Hisato Katayama, Naoto Banba, Yukio Sugimura, Makoto Tatsumi, Shin-ichi Kusakari, Hiroshi Oyama, Atsushi Nakahira, Subcellular compartmentation of strontium and zinc in mulberry idioblasts in relation to phytoremediation potential, *Environmental and Experimental Botany*, 査読有、85, 30-35(2012).

[学会発表] (計 1 件)

- ② 中平敦、佐藤充孝、片山寿人、杉村順夫、  
植物プロセスを利用したナノ材料創製と  
その評価、日本セラミックス協会2013年  
年会、2013年03月18日、東京工業大

6. 研究組織

(1) 研究代表者

(大阪府立大学教授) 中平 敦  
研究者番号：90172387

(2) 研究分担者

(京都工芸繊維大学・工芸科学研究科教授)  
杉村順夫  
研究者番号：20273542