

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 8 月 30 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25289355

研究課題名(和文)原子力発電所事故により降下した放射性核種の易動性化学状態生成と環境挙動の解明

研究課題名(英文) Study on environmental behavior of mobile fraction of fallout radionuclides by nuclear power plant accident

研究代表者

大貫 敏彦 (Ohnuki, Toshihiko)

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授

研究者番号：20354904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：易動性化学状態の放射性核種の環境中の挙動を明らかにするため、落ち葉や倒木中の放射性Csの微生物への濃集挙動を調べると共に、培地溶液への溶解挙動を調べた。その結果、倒木から糸状菌の子実体への移行経路として菌糸外を経由する経路のあることを発見した。さらに、微生物により可溶化された放射性Csが土壤中を移動しやすいことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Environmental behavior of mobile radionuclides have studied by sorption experiments of radiocesium in fallen leaves and wood by microorganisms and by dissolution experiments during growth of microorganisms in nutrient solution. The results showed that new pathway of radiocesium from fallen wood to fruiting bodies via outside of hypha and that radiocesium dissolved in the nutrient solution during growth of microorganisms is more mobile though soil column than cationic form of radiocesium.

研究分野：総合工学・原子力学・保健物理・環境安全

キーワード：放射性Cs 濃集 きのこ 移行経路 易動性

### 1. 研究開始当初の背景

福島第一原子力発電所の事故により降下し森林、畑地、草地などに広く分布している放射性核種（以下、核種）の将来にわたる挙動を予測することは、生態系の影響を評価する上で重要な課題である。中でも、稲などの農産物への核種の移行や、除染した市街地などの再汚染の機構解明は早急に解決しなければならない課題である。これまで現地の調査研究により、降下した核種は土壌では、表層5 cmに分布し降雨などによる移行も極めて小さいことが明らかにされている。申請者らも、植物に分布する核種をオートラジオグラフィにより分析し、事故後2ヶ月では福島市の事故以降に生育した葉にはほとんど移行していないことを明らかにした(図1)[1]。さらに、土壌や植物に分布している核種の化学状態を、様々な試薬溶液による溶出から推測し、多くの部分が土壌などに強く結合していることを明らかにした[2]。これらの結果は、稲や市街地への移行を否定している。したがって、現在行われている調査研究では、上記の問題の解決は難しい可能性が高い。



図1 事故後2ヶ月後に採取したカヤのオートラジオグラフィ像

この理由は、調査研究では調査時における核種の静的な化学状態を明らかにしているが、実際の環境では様々な要因により化学状態が時間の経過とともに変化する、すなわち動的な系で進行しているためである。我々は、微生物が存在する系では、微生物による有機物の分解[3]や有機酸の排出により[4]、固相に取り込まれていた元素が可溶化すること、及び化学状態をクロマトグラフと質量分析機を直接接続する方法(以下、LC-MS)ことにより明らかにした。これらの結果は、微生物の活性により降下した核種の化学状態が難移動性から易動性へと変化することを強く示

唆している。

### 2. 研究の目的

放射性核種の易動性化学状態を明らかにする。微生物の活性による核種の化学状態変化を調べるため、バイオ技術を用いることにより化学状態変化を加速させて易動性核種を生成する。さらに、易動性化学状態を同定する。また、易動性化学状態の核種の地中移動挙動及び植物への取り込みを明らかにして、易動性化学状態核種の環境動態モデルの構築に資する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 原位置における微生物の群集解析

福島県内で森林土壌の採取を行った。あらかじめオートクレーブ滅菌(121°C, 20分間)したシャベルおよびスパーテルを用いて、土壌の上の落ち葉等を取り除いた後、表層0-2 cmの土壌を20 g程度採取し、滅菌済みのポリ袋にいった。採取したサンプルは、保冷剤で冷蔵状態にして輸送した。

採取した森林土壌に存在する微生物の多様性、存在割合などの知見を得るために、微生物群集解析を行った。解析手法には、クローニング解析を用いた。

Extrap Soil DNA Kit PlusVer.2(日鉄住金環境)を用いて、土壌からのDNAの抽出・精製を行い、それぞれ100 µLの精製DNA溶液を得た。精製DNA溶液に含まれるDNAを鋳型として、真正細菌特異的ユニバーサルプライマー27fおよびBac1392Rを用いて真正細菌由来の16S rRNA遺伝子を増幅した。PCRサイクル数は、予めQPrimer-PCRを行って増幅過程をモニタリングして、23サイクルに決定した。95°Cで温めておいたPCR装置(LightCycler 1.0, Roche)に反応液を入れ、加熱変性を95°Cで30秒間行った後、加熱変性95°Cで15秒間、アニーリング50°Cで20秒間、伸長反応72°Cで50秒間を23サイクル行った。

上記で得られた真正細菌16S rRNA遺伝子のPCR増幅産物をクローニングし、各96クロンのシークエンス解析を実施した。シークエンス解析用プライマーは27fを使用し、16S rRNA遺伝子の塩基配列を解読した。得られたDNA配列を公共のデータベースと照合して相同性検索(BLAST検索)を行い、クローン毎に近縁な細菌種を予測した。

#### (2) 糸状菌への放射性Csの濃集

糸状菌菌糸への放射性Csの濃集を調べるため、Csを吸着することで知られる鉱物と糸状菌との放射性Csの親和性の高さを比較した。そのため、放射性Csを濃集することで知られる具体的には、2種類の糸状菌株(それぞれA株、B株とする)をモデル微生物として放射性Csの取り込み実験を行った。実験では培地溶液に寒天を2%加えた後に、<sup>137</sup>Csを10<sup>5</sup>Bq/Lとなるように添加して、寒天培地

とした。シャーレ内に  $^{137}\text{Cs}$  を含む寒天培地を形成し、上部にニトロセルロース膜をセットして、その上に糸状菌を植菌した。寒天培地を  $30^{\circ}\text{C}$  の恒温器内に静置して、菌の増殖を行った。4 日後、増殖した菌をフィルターとともに回収し、フィルターの裏面をイオン交換水で充分洗浄した後、乾燥させて、オートラジオグラフ分析に供した。糸状菌に濃集した放射性 Cs の濃度の測定では、Ge 半導体測定器により標準  $\gamma$  線源を用いて濃度を測定した既知量物質をフィルター上に添加し、放射能強度を濃度に変換した。

糸状菌への放射性 Cs の濃集性を評価するため、培地に種類の異なる鉱物を添加した。添加した鉱物は、合成ゼオライト A、クリプチライト、マイカ 1 (新潟大学、薬剤処理後 Na-4 マイカ)、マイカ 2 (010709)、マイカ 3 (010713)、白マイカ、(ルーセントライト(合成スメクタイト)、ソマシフ(合成雲母)、金雲母(フロゴパイト・インド産)、天然ゼオライト(クリノプチロライト・奥多摩工業)、天然ゼオライト(北海道仁木産)、スメクタイト(クニピア G-4・Lot328)、スメクタイト(クニピア F)、合成サポナイト(クニミネ工業・日本粘土学会参考資料 JCSS-3501)、天然イライト(斐川鉱業)、酸性白土 V2 (水澤化学工業)、バーミキュライト(中国産・昭和 KED)、バーミキュライト(南アフリカ産・昭和 KED) の 18 種類の鉱物を添加した。それぞれの鉱物の添加量は、 $1\text{g/L}$ 、 $5\text{g/L}$  及び  $10\text{g/L}$  である。

次に、糸状菌の子実体への放射性 Cs の濃集機構について検討した。具体的には、倒木から糸状菌子実体への放射性 Cs の濃集機構を解明するため、倒木中の放射性 Cs の糸状菌の子実体への移行経路について検討した。実験では、放射性 Cs により汚染した原木(放射能： $150\text{Bq/kg}$ ) を用いて糸状菌を育成して子実体を形成させた。

子実体形成のため、植菌したおがには放射性 Cs を吸着することで子実体への放射性 Cs の移行を阻害するための鉱物を添加した。比較のため、鉱物無添加のおが菌駒も用いた。放射性 Cs の樹木内分布はオートラジオグラフィにより測定した。子実体形成による水の濃集の分析では、水のトレーサーとしてプルシアンブルーを用いて分布を X 線 CT 法により測定した。

### (3) 植物への移行試験

植物への移行挙動の解明実験としてポット試験を行った。本実験に使用した土壌は、土壌中放射性 Cs 濃度が高く、ブロッコリーなどの生育に適した土壌を用いた。生育した植物は、ブロッコリー及びほうれん草である。植物の生育は、以下の方法により行った。

1)  $1/5000\text{a}$  ワグネルポット内に施肥または無施肥土壌  $2.3\text{ kg}$  をよく攪拌した後に入れ、ブロッコリー及びほうれん草を育てた。施肥の種類としては、ワラ分解王、ワラ分解キング、ピオ有機、無肥料、加里混合肥料、指標

菌資材である。

2) 一定期間生育して花芽が確認できた時期に、ブロッコリーの花芽を一定量採取した。細かく刻み、No.11 の袋に入れ振りまぜたのち、U8 容器に入れた。その後 Ge 半導体検出器で  $3600\sim 7200\text{s}$  計測した。ほうれん草の生育では、充分生育させて葉部を採取した。

3) 土壌は No.11 の袋に入れ、全体が混ざり合うように外側から手で混ぜた。その後、袋の中で土壌を入れ、NaI シンチレーション検出器で  $1800\text{s}$  計測した。

### (4) 落ち葉からの放射性 Cs 溶出と移行挙動

落ち葉からの放射性 Cs の溶出実験では、福島県内でキノコが発生した付近の湿った落ち葉を採取して、水溶液を抽出した(原位置水)。採取した落ち葉を、実験室内に湿った条件を保ちながら 65 日静置した(養生水)。原位置水及び養生水中の放射性 Cs 濃度を測定した。

溶出水を用いた土壌中移行実験では、福島県内で採取した未汚染土壌を用いて、カラム試験を行った。カラムを透過した水溶液中の放射性 Cs 濃度をモニターした。

## 4. 研究成果

### (1) 原位置における微生物群集

森林土壌の解析を行った 96 クローンのうち、81 クローンで塩基配列情報を得ることができた。ただし、分離された細菌の配列情報のみを対象とした BLAST 検索では、上記 81 クローンのうち 75 クローンが真正細菌に近縁であり、他の 6 クローンは真核生物に近縁であった。

BLAST 検索にて真正細菌由来と特定された 75 クローンを構成する近縁細菌の種類は 58 種類だった。*Gaiella* 属に近縁なクローン(クローン数：4、相同性： $91.0\sim 93.0\%$ )、*Phycisphaera* 属に近縁なクローン(クローン数：4、相同性： $78.7\sim 82.8\%$ ) 等が高頻度に検出された。

近縁細菌と同属の可能性のあるクローン(近縁細菌とクローン間の塩基配列の相同性が  $96\%$  以上であるクローン) は、75 クローン中 11 クローンであった。同様に、1 細胞あたりの 16S rRNA 遺伝子数が、検出された全ての細菌で同数であると仮定した場合、本サンプル中に存在した細菌の約  $15\%$  が、同定された近縁細菌と同属の細菌である可能性が示唆された。

これまで報告者らが実施した福島県内で採取した畑地などの土壌との比較から、森林土壌では、*Actinobacteria* 門 *Actinobacteria* 綱に分類される細菌、いわゆる放線菌が多くふくまれることがわかった。放線菌は、自然界において腐植酸などの難分解性有機物を分解する働きを有している。また、放線菌の一種である、*Rhodococcus sp.* は、高いセシ

ウム濃集能を有している。そのため、森林における葉、枝等の植物体に吸着した放射性セシウムの移行への影響は充分あると考えられる。

## (2) 糸状菌への放射性 Cs の濃集

A 株では、鉍物無添加条件で移行係数が約 60 であった。この移行係数で鉍物等を添加した培地で菌糸を生育した後、菌糸中への放射性 Cs の移行係数を規格化した。鉍物添加量が 0.1%、0.5%及び 1.0%の場合の結果から、鉍物を添加した場合の規格化した移行係数の序列は、

Illite > Bentonite > Mica, Vermiculite China, Vermiculite SA > Clinoptilolite > Zeolite P > Moredenite

であった。鉍物等の添加量を増やすことに移行係数は減少した。鉍物間の序列については、0.1%の場合とほぼ同じであった。

B 株の場合には、A 株に比べて移行係数が大きかった。この結果は、B 株の放射性 Cs 濃集能が A 株よりも高いことを示している。鉍物を添加した培地における移行係数も B 株の報が A 株よりも高いことから、B 株は放射性 Cs を有効に濃集する株と判断できる。鉍物は放射性 Cs を吸着することから、糸状菌による Cs の濃集は土壤中の鉍物との競合していることが明らかとなった。

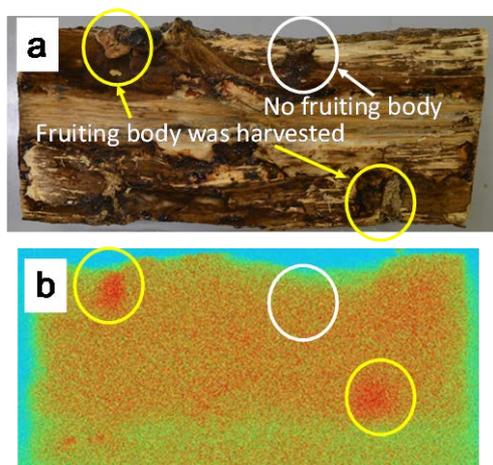


図 2a 倒木の断面写真。2b オートラジオグラフィ像

倒木からの糸状菌子実体への放射性 Cs の濃集については、子実体形成後の倒木を厚さ約 5mm の断面を切り出してオートラジオグラフィ解析を行った。その結果を図 3 に示す。断面の写真(図 2a)から、種菌を植菌した部分において子実体を形成した部分及び未形成の部分とを区別して示した。図 2b には、オートラジオグラフィにより測定した放射能強度の空間分布を示す。図中、黄色の円で示す色の濃い部分が放射能が高い領域であり、白色

円で示す部分が種菌を植菌したが子実体が未形成の部分である。図 2 から、子実体形成部に放射能強度の高い部分が存在することが分かる。倒木には放射性核種としては放射性 Cs ( $^{134}\text{Cs} + ^{137}\text{Cs}$ ) の他に  $^{40}\text{K}$  等が含まれるが、放射能は放射性 Cs が高いことから、強度高い部分には主に放射性 Cs が存在すると考えられる。このことから、子実体の形成過程において放射性 Cs が子実体発生部付近に濃集したものと考えられる。

種菌内には鉍物を添加したことから、鉍物の影響を調べるために、鉍物添加種菌を植菌した倒木から発生した子実体の放射性 Cs の移行係数と無添加種菌を植菌した倒木から発生した子実体への移行係数を比較したところ、鉍物を添加することにより移行係数は 40%程度減少した。この結果から、オートラジオグラフィ像に現れる放射能強度の高い部分は、子実体形成過程で発生部付近に移行した放射性 Cs が鉍物に吸着することに起因すると考えられる。

X 線 CT による子実体発生部付近の密度の 3 時限分を測定した結果(図 3) から、子実体形成部の鉛直方向下部において密度の高い部分、すなわちプルシアンブルーに含まれる Fe の濃度が高い部分が現れた。この結果から、子実体形成時にプルシアンブルー、すなわち水が子実体発芽地点に濃集することを明らかにした。さらに、プルシアンブルーの寒天培地による菌糸への移行試験結果から、プルシアンブルーが菌糸内に取り込まれないことを明らかにした。以上の結果から、水に溶解した放射性 Cs が菌糸の外を移動して、子実体発芽地点に濃集する経路が存在することを初めて明らかにした。

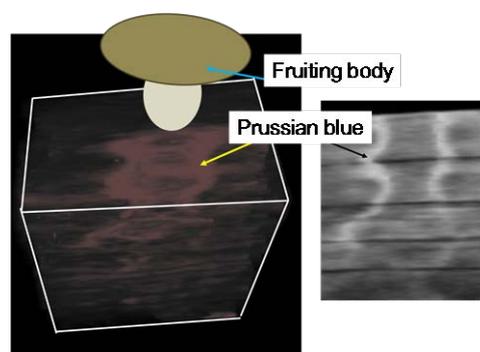


図 3 子実体下部の X 線マイクロ CT 像。右は断面像。

## (3) 植物への移行試験

ブロッコリーを生育して花芽を採取し、放射性セシウム濃度を測定した結果から、花芽の放射能濃度は 50-400 Bq/kg であった。地上部の重量はよく育ったもので一株 300 g 程度であり、花芽の濃度を地上部全体の濃度

として計算すると一株で最大 100 Bq を土壌から吸収したことになる。施肥の種類による違いではビオ有機が安定して高い移行が見られた。この原因として微生物の活性化が考えられるが、今後更なる検討が必要である。また、生育後の土壌中では顕著な放射性セシウム濃度の低下は見られなかった。一方、ほうれん草の葉部への放射性 Cs の顕著な濃集は見られなかった。

#### (4) 落ち葉からの放射性 Cs 溶出と移行挙動

落ち葉からの放射性 Cs の溶出実験の結果、原位置水中の放射性 Cs ( $^{137}\text{Cs}$ ) 濃度は、約 40Bq/L であり、養生水中のそれは約 100Bq/L であった。一方、林内雨中の放射性 Cs 濃度は、0.1Bq/L 程度であることから、落ち葉から放射性 Cs が溶出したと判断できた。

移行試験では、2 種類の溶出水により落ち葉から抽出した試料水を土壌カラムに通水した。一つは、イオン交換水を落ち葉に添加した抽出水(以下、イオン交換抽出水)であり、もう一つは、微生物培養液を添加した抽出水(以下、培養液抽出水)である。

両抽出水共に、土壌カラム下部からの流出水中に放射性 Cs を検出できた。一方、放射性 CsCl をイオン交換水に溶解した場合には、土壌カラム下部からは放射性 Cs の流出はほとんど無かった。溶解した Cs の化学形が、Cs<sup>+</sup>であるために、土壌中の鉱物成分に吸着されたためと考えられる。

一方、イオン交換抽出液及び培地溶液抽出液中の放射性 Cs の一部が、土壌カラム下部から流出した結果は、放射性 Cs が陽イオン以外の化学状態で存在している可能性を示している。流出液中の放射性 Cs 濃度は、培地溶液抽出水を流下した場合が、イオン交換抽出水の場合よりも高かった。このことから、微生物を培養する養分を含んでいる方が、移行性の高い化学状態の放射性 Cs の割合が高いことを示している。

#### 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)

① 大貫 敏彦、香西 直文、Adsorption behavior of radioactive cesium by non-mica minerals, J. Nucl. Sci. Technol., 査読有, 50, 369-375 (2013)

② 大貫 敏彦、相場 幸敏、坂本 文徳、香西 直文、新里 忠史、佐々木 祥人、Direct accumulation pathway of radioactive cesium to fruitbodies, Scientific Report, 6, 査読有, 29866, (2016).

[学会発表] (計 3 件)

① 大貫 敏彦、坂本 文徳、香西 直文、山崎

信哉、Yu Qianqian、Accumulation of radiocesium in filamentous fungi, Goldschmidt conference 2014, Sacramento, CA, USA, 2014 年 6 月 8-13 日。

② 大貫 敏彦、坂本 文徳、香西 直文、椎名 和弘、田中 健之、行川 淳、放射性 Cs 移行への糸状菌の影響—鉱物の影響—、2014 年度地球化学会年会、富山県、富山市、2014 年 9 月 16-18 日。

③ 大貫 敏彦、坂本 文徳、香西 直文、山崎 信哉、Yu Qianqian、The 2015 International Chemical Congress of the Pacific Basin Societies, Honolulu, USA, 2015 年 12 月 15-20 日。

[その他]

ホームページ等  
<http://asrc.jaea.go.jp/soshiki/gr/interfacial0/index.html>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

大貫 敏彦 (OHNUKI, Toshihiko)

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授  
研究者番号：20354904

##### (2) 研究分担者

香西 直文 (KOZAI, Naofumi)

日本原子力研究開発機構・先端基礎研究センター・研究主席  
研究者番号：80354877

坂本 文徳 (SAKAMOTO, Fuminori)

日本原子力研究開発機構・先端基礎研究センター・研究主幹  
研究者番号：60391273

宇都宮 聡 (UTSUNOMIYA, Satoshi)

九州大学・理学部・准教授  
研究者番号：40452792

難波 謙二 (NANBA, Kenji)

福島大学・共生システム理工学類・教授  
研究者番号：70242162

山崎 信哉 (YAMASAKI, Shinya)

筑波大学・アイソトープ環境動態研究センター・助教  
研究者番号：70610301

鈴木 義規 (SUZUKI, Yoshihinori)

東京工科大学・応用生物学部・助教  
研究者番号：20455281

田中 万也 (TANAKA, Kazuya)

日本原子力研究開発機構・先端基礎研究センター・研究副主幹

研究者番号：60377992