

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：12701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2015

課題番号：15K12224

研究課題名(和文)地衣菌を担持した自己生長型ポーラスガラス吸着剤の開発

研究課題名(英文)Development of porous glass adsorbent in which the lichen fungi grows

研究代表者

伊藤 公紀 (ITO, Kiminori)

横浜国立大学・環境情報研究科(研究院)・教授

研究者番号：40114376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：金属を高濃度で蓄積する地衣類ヤマトキゴケの地衣菌を培養し、セシウム添加の影響とセシウム吸着能を調べた結果、この地衣類がセシウム吸着剤に適していることが示唆された。

本研究で購入した装置を既存の装置と組み合わせ、糖アルコール分析システムを構築した。金属汚染環境の地衣類に対する分析の結果、金属濃度と糖アルコール濃度とが負の相関関係にあることが見出され、地衣類中の糖アルコールへの金属汚染の影響が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The lichen fungi of the metal-hyperaccumulator lichen *Stereocaulon japonicum* were cultured; the effect of Cs addition on it and the Cs adsorption capacity of it were investigated. The results suggest that it is suitable for Cs adsorbent.

The sugar-alcohol analysis system including the apparatus, which was purchased in this study, in combination with our existing apparatus was developed. Using this system, the negative correlation between metal and sugar-alcohol concentrations in the lichen growing in metal-contaminated environments was found, revealing the effect of metal pollution on sugar-alcohols in lichens.

研究分野：環境計測

キーワード：セシウム 地衣菌 糖アルコール 金属汚染

1. 研究開始当初の背景

(1) 福島第一原発の事故以降、放射性物質用吸着剤が目される中、我々は、ゼオライトと同等のセシウム吸着能を有しながら膨潤がなく、吸着後に特別な処理をせずに焼結固化が可能な、分相法ポーラスガラスを開発している(伊藤ら 2012)。一方、地衣類は放射線に強く、数万 Bq/kg の放射性物質を取り込みながら生きている(Richardson 1992)。また、重金属汚染された場所で数百から数万 ppm の重金属を蓄積している地衣類も多く知られている(Shaw 1990)。さらに、様々な耐性試験が行われており、強酸性下でも生長する地衣類が報告されている(吉村ら 1987)。

(2) 我々は、上記の分相法ポーラスガラスの研究開発を進めながら(Nakajima and Itoh et al. 2014)、一方で、銅汚染環境に生育する地衣類を調査し、普通種のヒメジョウゴケ(*Cladonia humilis*)とヤマトキゴケ(*Stereocaulon japonicum*)が銅汚染環境にも広く見られ、それぞれ最大 0.06、0.15 wt% の銅を蓄積していることを見出してきた(Nakajima et al. 2012, 2013)。そこで、金属蓄積能力を持った地衣類をポーラスガラスに担持することができれば、地衣類がセシウム等の放射性物質を取り込みながらポーラスガラスの中で生長していく、自己生長型の吸着剤となるのでは、との着想を得た。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、セシウム吸着能を有する分相法ポーラスガラスと、放射性物質および重金属の蓄積能力を有しながら強酸性下でも生長することのできる地衣菌を組み合わせることにより、それぞれの特性を生かした、自己生長型の吸着剤を開発することである。

(2) ポーラスガラスが吸着能力を失った後は、地衣菌が生長していくことで吸着能力を持続することができる。多様な地衣類が様々な有害物質に対して優れた蓄積能力を有することは知られているが、本研究で地衣菌がポーラスガラスに担持されることによって、地衣類の優れた能力を利用した環境浄化が初めて実現する。

(3) 本研究において、地衣菌を担持したポーラスガラスの有用性が示されることで、今後、優れた能力を持った他の生物に対しても同様の研究開発が発展していくものと期待される。

3. 研究の方法

(1) サンプル採集：国内の金属汚染および非汚染地域で地衣類を調査して、候補となるサンプルを同定、採集した。地衣類調査は、箱根町、伊豆市(静岡県)、多田銀銅山(兵庫県)、能勢町(大阪府)、岩国市、喜和田鉱

山(山口県)の6ヶ所で行った。また、培養実験用のサンプルを、中央区(福岡県)、葛飾区(東京都)で採集した。

(2) 培養実験：地衣体の一部から地衣菌を分離培養する方法を確立した山本好和教授(秋田県立大)から直接伝授された培養法に従い、採集した地衣類サンプルから地衣菌を分離培養した。この培養サンプルを使って以下の実験を行った。

セシウム添加実験：通常の培地と 10、100 ppm の濃度のセシウムを添加した培地に、地衣菌を接種し、地衣菌の生長を観察した。

セシウム吸着実験：培養で生長した地衣菌と元の地衣類であるヤマトキゴケを 1 ppm の濃度のセシウム溶液に浸漬し、その前後でセシウム濃度を誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)で測定、吸着率を求めた。

(3) サンプル分析：上記(1)の6ヶ所から採集した 12 サンプルについて、以下の分析を行った。

銅：サンプルを酸に溶解し、その溶液中の銅濃度を ICP-MS によって定量分析した。

糖アルコール：本研究で購入した電気化学検出器を含む高速液体クロマトグラフ(HPLC)分析システムを用いて、地衣類に含まれる糖アルコールを定量分析した。

クロロフィル a, b 濃度と a/b 比：ヤマトキゴケを構成する共生藻類への銅汚染の影響を調べるため、この藻類から抽出したクロロフィルを含む溶液の吸収スペクトルを測定し、そのスペクトルデータを文献の式(Wellburn, 1994)に代入して、クロロフィル濃度を求め、a/b 比を算出した。

4. 研究成果

(1) ヤマトキゴケの胞子から地衣菌の分離培養を行い、実験に用いる培養サンプルを製作した(図1)。

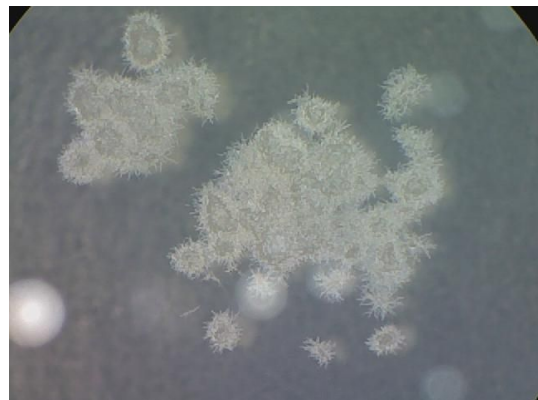


図1. 寒天培地上のヤマトキゴケ地衣菌

(2) セシウム添加実験において、地衣菌は通常培地とセシウム添加培地で同様に生長、両者に差は見られず、高濃度のセシウム存在下でも地衣菌は生長できることが示された。この結果から、本研究で用いた地衣菌はセシウム吸着剤としての基本的な条件の1つを満たしていることがわかった。

(3) セシウム吸着実験において、地衣菌は地衣類と同等の吸着率(16%)を持つことが示された。この結果と上記(1)の結果から、本研究で用いた、ヤマトキゴケを構成する地衣菌はセシウム吸着剤に適している、ということが示唆された。

(4) サンプル分析の結果を表1にまとめた。ヤマトキゴケ中の銅濃度は、非汚染サンプルでは 5.1 ± 0.5 [ppm] だったのに対して、銅汚染サンプルではその約3倍から約390倍も高かった。この結果によって、ヤマトキゴケは最大で0.2 wt%の銅を蓄積することのできる、銅ハイパーアキュムレーターであることが確認された。しかし、アラビトール濃度は、非汚染サンプル (2.35 ± 0.30 wt%) と銅汚染サンプル (2.23 ± 0.32 wt%) とで差がなかった。それゆえ、汚染・非汚染のグループに分けての比較では、銅汚染による地衣類中のアラビトールへの影響が見られなかった。

表1. ヤマトキゴケ中の銅濃度[ppm]とアラビトール濃度[wt%]

No.	採集場所	銅濃度 [ppm]	アラビトール濃度 [wt%]
1	箱根	2000.1	2.09
2	伊豆市	82.8	1.86
3	伊豆市	786.5	2.50
4	伊豆市	4.4	1.98
5	多田銀銅山	5.2	2.25
6	多田銀銅山	99.2	2.13
7	多田銀銅山	29.0	1.97
8	能勢町	124.3	2.72
9	能勢町	5.6	2.65
10	岩国市	5.1	2.52
11	喜和田鉱山	13.5	2.59
12	喜和田鉱山	30.3	1.99

(5) ところが、銅濃度が100 ppm以上の汚染サンプルについては、銅濃度が高いほどアラビトール濃度が低いという負の相関関係が見出された(図2)。この結果は、ヤマトキゴケを構成する地衣菌による二次代謝物の生成に対する銅汚染の影響には閾値があり、それ以上の高濃度の銅汚染では銅濃度が高いほど、二次代謝物の生成が抑えられたことを示している。したがって、この結果から、銅汚染が地衣類に与える影響のうち、地衣菌

への具体的な影響の1つが解明された。以上より、金属汚染が地衣菌へ与える影響についての理解が深まった。

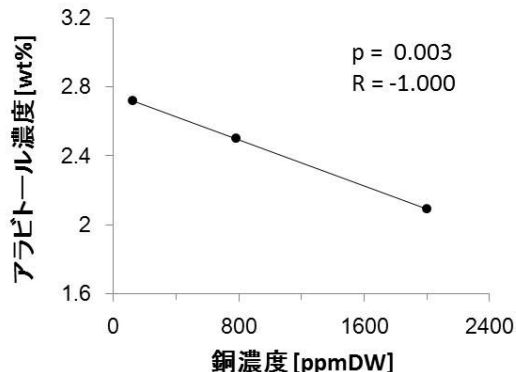


図2. 銅濃度とアラビトール濃度の関係

(6) クロロフィル a, b の濃度そのものには銅汚染の影響は見られなかった。しかし、a/b比は銅濃度と負の相関関係にあり(図3)、銅ストレスによるクロロフィル a から b への転換が示された。この結果は、ヤマトキゴケを構成する共生藻類が、地衣菌とは異なり、閾値なしに銅ストレスを受けていることを意味している。したがって、この結果から、銅汚染が地衣類に与える影響のうち、共生藻類への具体的な影響の1つが確かめられた。以上より、金属汚染が地衣類へ与える影響についての理解がさらに深まった。

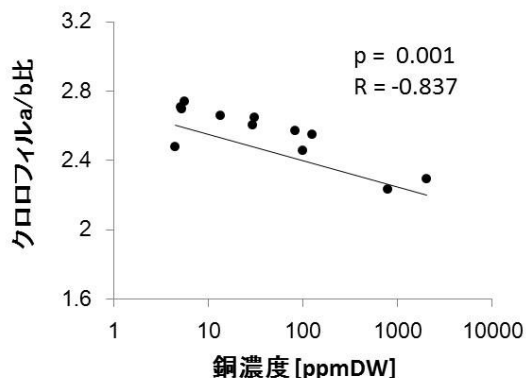


図3. 銅濃度とクロロフィルa/b比の関係

<引用文献>

Hiromitsu Nakajima, Kenjiro Fujimoto, Azusa Yoshitani, Yoshikazu Yamamoto, Haruka Sakurai, Kiminori Itoh, Effect of copper stress on cup lichens *Cladonia humilis* and *C. subconistea* growing on copper-hyperaccumulating moss *Scopelophila cataractae* at copper-polluted sites in Japan, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 84, 2012, pp. 341-346.

Hiromitsu Nakajima, Yoshikazu Yamamoto, Azusa Yoshitani, Kiminori Itoh, Effect of metal stress on photosynthetic pigments in the Cu-hyperaccumulating lichens *Cladonia humilis* and *Stereocaulon japonicum* growing in Cu-polluted sites in Japan, Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 97, 2013, pp. 154-159.

Kazuko Yamasaki, Hiroshi Nagasawa, Hiromitsu Nakajima, Takashi Amemiya, Kiminori Itoh, Ion-exchange of Cs⁺ ions on phase-separating porous glass: effect of residual sol in pores, Electrochemistry, Vol. 82 (3), 2014, pp. 162-164.

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0件)

[学会発表](計4件)

Hiromitsu Nakajima, Naoki Fujimoto, Takashi Amemiya, Kiminori Itoh, Effect of Cu stress on the allocation of carbohydrates in the Cu-hyperaccumulator lichen *Stereocaulon japonicum*, Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXIX, 2015年9月1日, Figueira da Foz (Portugal).

Hiromitsu Nakajima, Yusuke Takahashi, Yusuke Iida, Shiro Kubuki, Kiminori Itoh, Relationship between the chemical state of Fe and the concentrations of Fe and chlorophyll in the Fe-hyperaccumulator moss *Scopelophila cataractae*, 13th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, 2015年7月15日, Fukuoka international congress center (福岡県・福岡市).

中島啓光, 藤本尚希, 山本好和, 伊藤公紀, ヤマトキゴケの地衣成分と色素に対する銅汚染の影響, 日本地衣学会第14回大会, 2015年7月5日, 久留米高専(福岡県・久留米市).

藤本尚希, 中島啓光, 雨宮隆, 伊藤公紀, 山本好和, キゴケ属の地衣成分に対する銅汚染の影響, 日本地衣学会第14回大会, 2015年7月5日, 久留米高専(福岡県・久留米市).

[図書](計0件)

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 公紀 (ITO, Kiminori)
横浜国立大学・大学院環境情報研究院・教授
研究者番号: 40114376

(2) 研究分担者

中島 啓光 (NAKAJIMA, Hiromitsu)
横浜国立大学・大学院環境情報研究院・助教
研究者番号: 60399409