

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 28 日現在

機関番号：12401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25820221

研究課題名(和文) 車軸藻による水中の重金属類除去システム

研究課題名(英文) Phycoremediation of heavy metal polluted water using charophytes

研究代表者

ラシッド エムディハルノオル (RASHID, Md Harun Or)

埼玉大学・理工学研究科・助教

研究者番号：80643262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：車軸藻は光合成の過程で炭酸水素イオンを利用することで、水中のカルシウムイオンを固定、体表面に炭酸カルシウムの膜をつくる。この際に水中の重金属イオン等の有害物質を取り込むことで、これらを水中から除去する。さらに、こうして取り込まれた有害物質は車軸藻が枯死、分解した後も水中に溶出することはない。本研究では、こうした性質を利用して車軸藻をファイトレメディエーションに利用する際に必要になる以下のような性質を室内実験によって明らかにした。亜鉛、ヒ素、セシウム等の溶液中では、これらの物質のうち30 - 40%程度は炭酸カルシウムと結合する形で取り込まれる。

研究成果の概要(英文)：One of the setbacks of using phytoremediation techniques is that the toxic substances accumulate in the plant tissues and there is a possibility of re-release after decomposition of the plant. Charophytes, due to their properties of calcification, can bind toxic substances to the calcite which is relatively stable and resists decomposition. However, accumulation of toxic materials may exert abiotic stress to the charophytes and deter the phytoremediation process. In this study, we tested stress tolerance and phytoremediation efficiencies of *Chara australis*, *Chara braunii*, and *Nitzschia pseudoflabellata* to different concentrations of zinc, arsenic, and cesium exposure. Although increasing the concentration of metals (zinc, arsenic, and cesium), the stress condition of the algae increased, they could grow and accumulate considerable amount (30-40%) of those elements. Therefore, these plants can be successfully used for phytoremediation of heavy metals from water.

研究分野：水工学

キーワード：車軸藻 石灰化 ファイトレメディエーション 重金属除去

1. 研究の開始当初の背景

(1) 土壌や地下水の汚染は、日本だけでなく、世界のあらゆる地域で深刻な環境問題となっている。もともと地域特有の自然由来の重金属などによる汚染も見られるが、工場による環境汚染も極めて多く、早い解決が望まれている。

(2) 植物を用いた土壌や地下水等の汚染処理技術はファイトレメディエーションと呼ばれ、近年世界中で研究が進められている。この技術は植物が重金属などの有害物質を植物体中に吸収し蓄積する生理学的機能を生かし、汚染土壌に植物を生育させ、それを収穫し汚染物質を植物と一緒に処理する技術である。植物を使うため、化学薬品を用いた汚染処理に比べ、自然に対する負荷が少なく、コストを抑えることができる。また、植物を生育させるという簡単な作業なので、誰でも簡単に処置できるというメリットがある。その反面、植物を使っているため、時間が掛かる、周辺の環境に影響を受ける、また植物が枯死した際、分解に伴って有害物質が再帰することが考えられる。

(3) そうした中、車軸藻は、光合成の過程で、藻体の周りを石灰化し、炭酸カルシウムのバンドを形成するという特徴を有している。また、その際に水中の重金属を炭酸カルシウムと結合させる。こうした形態で存在する重金属は極めて安定で、その後溶出することはなく、また、炭酸カルシウムと結合していることから、藻体の枯死、分解後も一旦捕捉された重金属が周囲へ再帰することはなく、水底の底質中に安定に捕捉されることになる(図1参照)。

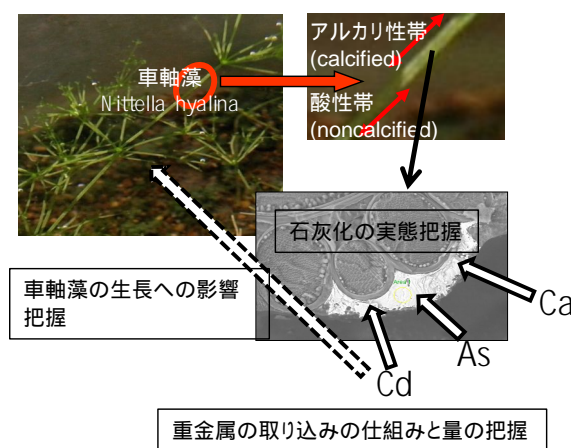


図1 車軸藻の石灰化と重金属の捕捉形態

本研究では、こうした車軸藻の有する機構をファイトレメディエーションに利用することを目的に、その際に必要となる基礎的性質を明らかにした。

2. 研究の目的

(1) 車軸藻を用いて、異なるカルシウム及び重金属濃度の培養液を用いた培養実験を行い、水中のカルシウム濃度と石灰化や捕捉される重金属の量と捕捉の形態を把握する。

(2) 車軸藻自体の重金属に対する耐性を明らかにし、重金属の捕捉が車軸藻に与えるストレスを評価する。

3. 研究の方法

(1) 実験では、車軸藻として、状況に応じて、*Chara braunii*、*Chara fibrosa*、*Chara australis*、*Nitella pseudoflabellata*を用いた。実験では、これらの車軸藻を、200gの珪砂を敷き詰め、1%のHoagland溶液を加え、25度に設定した2Lのピーカー中で、培養した。また、カルシウムについては、4mg/L-80mg/Lのいくつかの異なる濃度に設定した。また、実験に用いた重金属類としては、亜鉛、ヒ素及びセシウムを用い、いくつかの異なる濃度にする事で、濃度の影響を把握した。

4. 研究成果

(1) 亜鉛に対する影響

図2及び図3は、車軸藻(*Chara fibrosa*)を異なるカルシウム濃度、亜鉛濃度中で培養した際の植物体中に含まれる亜鉛濃度とストレス度の指標である最大量子収率を示したものである。ここで、図3中の initial は亜鉛を加える前、final は亜鉛を加えた後の値である。植物体中の亜鉛濃度は溶液中の亜鉛濃度が高い場合はいうまでもないが、溶液中のカルシウム濃度が高い方が高くなっていることが示される。一方、最大量子収率は亜鉛を加える以前には0.8程度と比較的高い値にあり、ストレス度は低いと考えられるが、亜鉛を加えた後では、亜鉛濃度の増加と共に低下しており、ストレスが増加したことが示される。

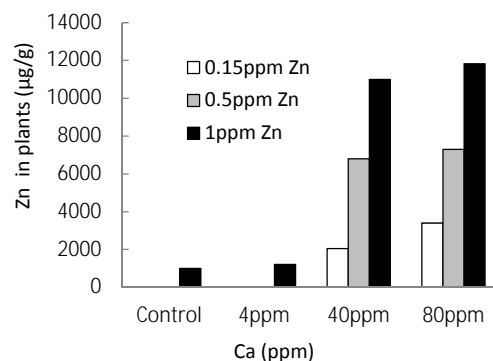


図2 植物体中に含まれる亜鉛濃度

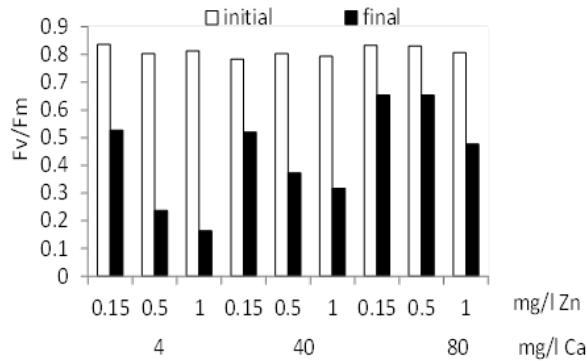


図3 異なる濃度のカルシウム及び亜鉛中の車軸藻の最大量子収率

### (2) ヒ素に対する影響

図4に異なる車軸藻類(*C. australis* 及び *C. braunii*)に対するヒ素を加えた場合の最大量子収率を示す。ここで、*C. australis* はオーストラリア原産、*C. braunii* は日本の水田等にふつうにみられる種である。

*C. braunii* の場合、低濃度の場合、比較的低いストレスにとどまっているものの、ヒ素濃度 0.1mg/L の溶液中では枯死してしまっていた。一方で、*C. australis* はヒ素以外の重金属にも高い耐性を示しており、外来種の問題がない場合には利用価値が高いことが示された。

次に、図5に、ヒ素溶液中で培養した *C. braunii* の藻体中のヒ素の形態別の含有量を示す。培養液中のヒ素の濃度の上昇と共に藻体中のヒ素の含有量は増加、また、その中で石灰と結合した割合は、50%近い値で、比較的一定の割合に保たれている。このことは、車軸藻により、ヒ素が効率よく再回帰しない形態で取り除かれることを示している。

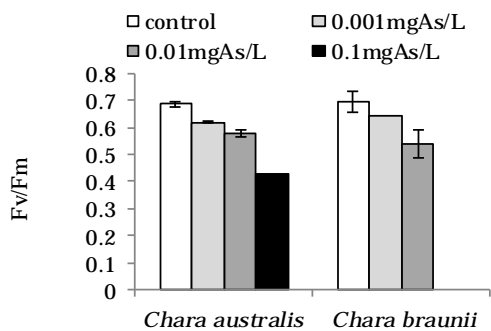


図4 *C. australis* 及び *C. braunii* のヒ素に対する耐性

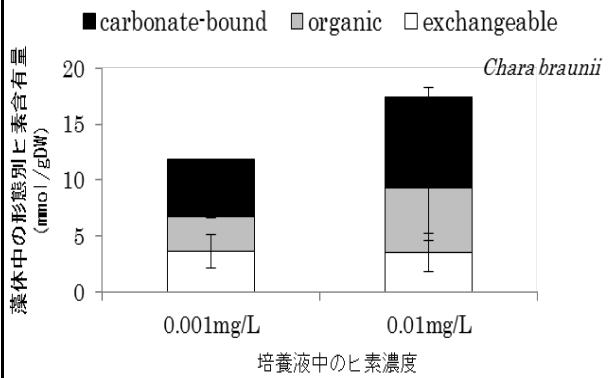


図5 ヒ素を含む溶液中で培養した車軸藻の藻体中のヒ素の形態

### (3) セシウムに対する影響

原発事故の対策に向けてはセシウムの除去が大きな課題である。車軸藻の利用はこれにも大きな効果を発揮することが考えられる。車軸藻 (*Nitella pseudoflabellata*) を用いて、セシウムに対する耐性、除去の可能性について調べた。

図6及び図7は、セシウムに対する耐性を調べるために、異なるセシウム濃度の培養液で培養した車軸藻の茎の伸び速度、ストレスの高まりと共に高い値になる活性酸素の一つ  $H_2O_2$  濃度、及び抗酸化酵素であるカタラーゼ活性 (CAT) 及びアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) の活性度についての測定結果を示す。

茎の伸び速度はセシウム濃度の増加と共に徐々に減少している(図6)。一方、 $H_2O_2$  濃度は、セシウム濃度が 0.01mg/L までは上昇するものの、それを超えるとむしろ減少している(図7)。同様に、抗酸化酵素活性についても、同様な傾向がみられる(図8)。

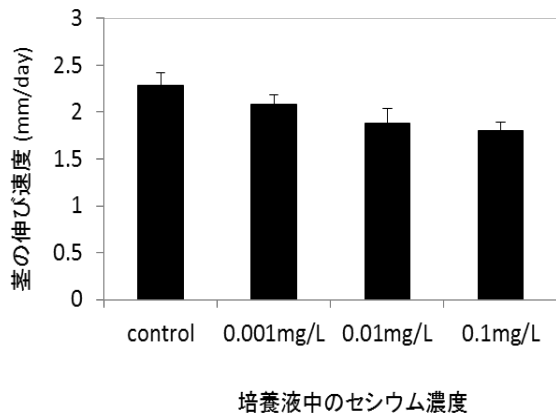


図6 異なる濃度のセシウムを含む培養液中で培養した車軸藻の伸び速度

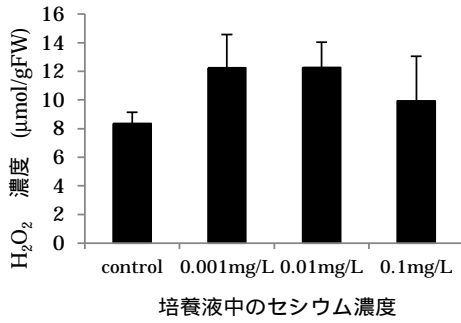


図7 異なる濃度のセシウムを含む培養液中で培養した車軸藻の藻体中の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度

さらに、ストレスの結果生ずると考えられる藻体中の色素含有量を図9に示す。クロロフィル a 及び b はセシウム濃度の増加と共に減少しているのに対し、抗酸化作用のあるカロティノイドの濃度は変化が見られないことが示される。

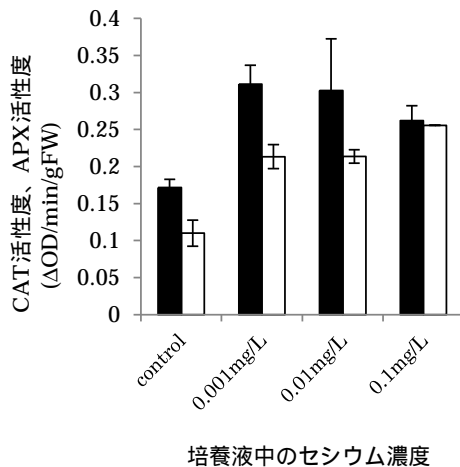


図8 異なるセシウム濃度で培養された藻体中のカタラーゼ（左棒）及びアスコルビン酸ペルオキシダーゼ活性（右棒）

最後に、藻体中に取り込まれているセシウムの形態別含有量を図10に示す。ヒ素と比較すると、炭酸カルシウムと結合したものの割合は低いものの、それでも30 - 40%程度には達しており、こうした形態のセシウムは植物体の枯死、分解の際にも水中に溶出することはなく、安定に底質中に保持される。セシウムを水中から持続的に取り除くことには有効に機能することが示された。

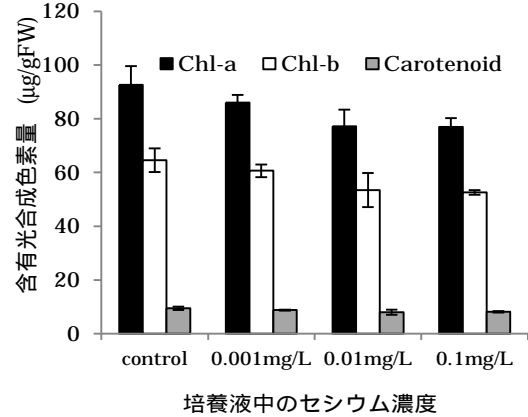


図9 異なるセシウム濃度で培養された藻体中の光合成色素の含有量

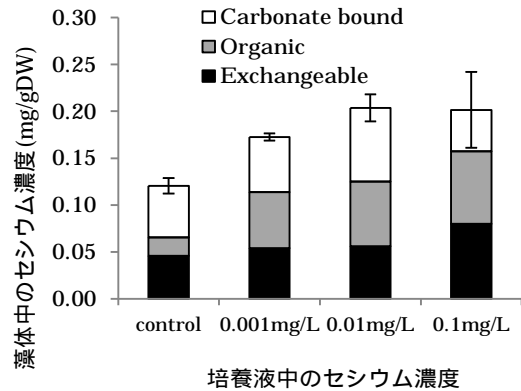


図10 異なるセシウム濃度で培養された藻体中の形態別セシウム含有量

#### (4) まとめ

ファイトレメディエーションは、安価で環境にやさしい有害物質の除去技術として世界中で注目されている。ところが、その中には、植物体の枯死、分解に伴って捕捉された有害物質が周囲に再帰するという大きな問題がある。そのため、この技術を用いる際には、植物を刈り取るという極めて大きな作業を伴っていた。

本研究により、車軸藻を用いることは、水中の重金属を水中から安定に除去することが可能な、極めて有効な手段であることが確認された。

## 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)

K.S.S. Atapaththu, M.H. Rashid, T. Asaeda. Growth and oxidative stress of brittlewort (*Nitella pseudoflabellata*) in response to cesium exposure. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Vol 96, pp.347-353, 2016.

T. Asaeda, M.D.H.J. Senavirathna, Y. Kaneko, M.H. Rashid. Effect of calcium and magnesium on the growth and calcite encrustation of *Chara fibrosa*. Aquatic Botany, Vol.113, pp.100-106, 2014.

〔学会発表〕(計 1 件)

M.H. Rashid, K.S.S. Atapaththu, T. Asaeda. Calcification of *Nitella*: implication for phytoremediation of cesium contamination. 32nd Congress of the International Society of Limnology, Turin, Italy, 31 July-05 August, 2016.

〔図書〕(計 0 件)

〔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

ラシッド エムディハルノオル (RASHID, Md Harun Or)

埼玉大学・理工学研究科・助教

研究者番号：8 0 6 4 3 2 6 2