

微細藻類を利用したストロンチウムおよびセシウムの回収

松井雄一郎¹⁾, 青木元秀¹⁾, 藤原祺多夫¹⁾, 都筑幹夫²⁾

東京薬科大学生命科学部¹⁾環境衛生化学研究室,²⁾環境応答生物学研究室

はじめに

東日本大震災(2011年3月11日)に伴い発生した福島第一原子力発電所(福島第一原発)の炉心損傷を伴う過酷事故により、環境中に放出された放射性物質は、海洋および東北から関東、東海地方に及ぶ広範囲の陸域に拡散し、深刻な環境汚染を引き起こしている。この放射性物質による人体・農作物・家畜・生態系への影響が懸念されている。これらを回収除去して、早期に元の環境を回復することが喫緊の課題となっている。

原子炉で核燃料として使用された時のウラン²³⁵(²³⁵U)の主な放射性核反応生成物には、希ガス、ヨウ素(I), セシウム(Cs), ストロンチウム(Sr), ウラン(U), プルトニウム(Pu), トリウム(Th)などの多くの核種がある。福島第一原発の事故では、このうち生成収率が高く比較的低温(数百°C)で気化するヨウ素¹³¹(¹³¹I), セシウム¹³⁴(¹³⁴Cs), セシウム¹³⁷(¹³⁷Cs)およびストロンチウム⁹⁰(⁹⁰Sr)が大気環境中に大量に放出され、広範囲に沈着したことが報告されている¹⁾。また、これらを含む汚染水の流出に伴う海洋の大規模な汚染も生じている²⁾³⁾。

福島第一原発の事故からおおよそ2年が経過した現在,¹³¹Iは半減期(8.04日)が短いため、環境中からはほとんど検出されなくなっている。一方で,¹³⁴Cs(半減期2.06年),¹³⁷Cs(半減期30.0年)および⁹⁰Sr(半減期29.1年)は半減期が比較的長く、また、建物や土壌などへの吸着能力が高いために環境中に長期間にわたって残存し、影響を与えることが予想されている。

これらの放射性物質に汚染され、除染が必要とされる対象物は、福島第一原発敷地内に貯留された原子炉冷却水を含む高レベル汚染水や、原発を取り囲む広範囲の市街地、農地、森林、水源地、河川など多岐にわたり、その濃度も多様である。環境中に異なる状態で存在する放射性物質を回収して除去するための万能な回収技術を開発することは困難であるから、状況に合わせて最適な汚染除去技術を開発して、実際の除染に役立てることが求められている。

これまでに、様々な放射性物質の回収・除去技術が提案されている。特に、ゼオライトや層状ケイ酸塩系の鉱物性の吸着剤を用いた放射性物質の吸着・除去技術は、実証試験段階となっている⁴⁾。また、プルシアンブルーやクラウンエーテルなどの人工化学薬品を用いた放射性物質の回収試験も行われている⁵⁾⁶⁾。しかしながら、これらの技術には、放射性物質を含む大量の吸着剤廃棄物が発生したり、残存薬品による生態系破壊が生じたりする問題も懸念されている。また、吸着剤の生産には経費と時間を要する。これらのデメリットを補完する回収技術が開発される必要がある。

生物を利用して環境中の有害元素を回収除去する環境修復(バイオレメディエーション)技術は、鉱物や化学薬品を利用した回収・除去技術に比べて、脱水により容易に減容化が可能で、また天然に存在する生物を用いるため、化学薬品の使用で生じる様な環境影響を回避することが可能である。特に植物は太陽光をエネルギー源とし独立栄養的に増殖可能であることから、従来の回収技術に比べ低コストで除染が可能となると期待されている。震災以降現在までに、放射性物質を吸収する能力があると期待されたヒマワリやアブラナなどによ

る土壌の除染試験が福島県を中心に行われているが、大きな除染効果が出ておらず、実験後の保管や処理も課題となっている⁷⁾。このように、陸上植物を使った除染技術が確立されるまでには、しばらく時間がかかるものと予想される。また、湖沼や農業用水等の水の浄化では、このような陸上植物の利用は不向きであろう。

我々が従来研究対象としてきた微細藻類は水圏に生息する植物プランクトンで、一般に高等植物よりも短期間で生育し、金属元素を蓄積する能力も高いという特徴を有している。したがって、水の浄化では、微細藻類を利用すれば、より短期間で効率的に放射性同位元素の回収が可能になると考えられる。そこで本研究では、微細藻類を利用した Sr および Cs の回収・除去技術開発の基盤として、単細胞緑藻 *Chlorella* をモデルとして Sr および Cs の吸着パラメータを評価し、さらに、その Sr および Cs の除去メカニズムについて考察した。また、実際に生きた *Chlorella* を用いた Sr および Cs の回収・除去技術システムを構築して、溶液中の Sr および Cs の除去が可能か検証した。

実験材料と方法

生物材料と培養条件

Chlorella kessleri 11h (*Parachlorella kessleri* NIES-2160) を用い、5 倍希釈した植物組織培養用ガンボーグ B5 培養液中で、空気通気して培養を行った⁸⁾。培地の pH は、必要に応じて 20 mM HEPES-NaOH で pH7.5 に調整した。培養中は、植物育成インキュベーター (EYELA, FLI-2000) 中で、温度を 25° C に保ち、蛍光灯 (昼白色) により約 100 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の強度で光を照射した。細胞量は、遠心分離により回収した後に凍結乾燥し、乾燥重量(dry wt.)の測定により求めた。また、実験によっては 730 nm の濁度 OD₇₃₀(JASCO, UV-650) を測定し、換算式 (OD₇₃₀ 値 \times 0.43 [g dry wt. \cdot L⁻¹]) より求めた。

Sr および Cs の曝露と試料サンプリング

本研究では、*Chlorella* の Sr および Cs の吸着・取り込み量の測定にあたり、放射性同位体と比較して格段に取り扱いが容易な Sr の安定同位体 ⁸⁶Sr、および Cs の安定同位体 ¹³³Cs を、それぞれ化学的性質および生物学的性質については放射性同位体と同じであるとみなし、測定対象元素として試験に用いた。

Chlorella への曝露は、初期濃度を 0.2 g dry wt. \cdot L⁻¹ に調製した生細胞培養液に、硝酸 Sr 溶液および塩化 Cs 溶液を添加して開始した。曝露に用いた Sr 溶液および Cs 溶液は、それぞれ特級グレードの硝酸ストロンチウム (和光純薬工業) および塩化セシウム (和光純薬工業) を超純水に溶解して 1.00 mM に調製した後に、0.20 μm シリンジフィルターを通して濾過滅菌した。培養液の一部を経時的にサンプリングした直後に、遠心分離 (15,000 $\times g$, 5 分間) により細胞と培地上清とに分離し、チューブに密封して測定まで保存した。

試料の無機化と元素定量

サンプルは元素定量に先立って、湿式灰化法により有機物の分解をおこなった。分析試料 (0.2 g dry wt.以下) を容量 15 mL のポリプロピレン製のチューブに量り取り、ドラフトの中で超高純度濃硝酸 (関東化学) を 1.0 mL 加え、加熱アルミブロック上で 95° C で加熱分解を行った。泡立ちや褐色のガスの発生がおさまり反応が終了したら、加熱ブロックから降ろして室温まで冷却後、超高純度 30%過酸化水素水 (関東化学) を 0.2 mL 加え、さらに加熱ブロック上で 95° C で発砲がなくなり溶液の色が透明あるいは淡黄色になるまで加熱を続

微細藻類を利用したストロンチウムおよびセシウムの回収

けた。内部標準物質としてインジウム標準液（関東化学）を最終濃度 1.00 ppb となるように試料に添加した後、超純水で 10.0 mL に定容して測定用試料溶液を調製した。

Sr および Cs の量は、誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）（Perkin Elmer, Elan 6000 DRC II）で定量した。ICP-MS の測定パラメータは、Sampling Pump rate: 24 rpm, RF Power: 1.2 kW, Monitoring Mass: 133(Cs), 88(Sr) and 115(In), Detector Mode: Dual Mode, Measurement Units: cps, Dual Time: 50 ms に設定した。定量に用いた検量線は、ストロンチウム標準液（関東化学）およびセシウム標準液（関東化学）を希釈して調製した濃度標準溶液列により作成した。

モデル解析による吸着パラメータの決定

各元素の細胞への吸着パラメータとして、細胞-溶液分配比 K_d (L/Kg) を求めた⁹⁾。さらに Langmuir 吸着等温式¹⁰⁾により Langmuir 吸着パラメータを解析した。Langmuir の吸着モデルは、均一な表面に一定数の吸着点が存在すること、各吸着点には 1 つのリガンドだけが単相吸着すること、および異なる吸着点に吸着されたリガンド同士の相互作用がないことを仮定して、平衡状態における吸着量と溶質濃度との関係を導いた理論式で、式 (1) で表される。

$$C_{\text{Ads}} = (C_{\text{Ads,max}} K_{\text{Lang}} C_{\text{Sol}}) / (1 + K_{\text{Lang}} C_{\text{Sol}}) \quad (1)$$

ここで、 C_{Ads} (mol/kg) は固相に吸着しているリガンドの濃度、 C_{Sol} (mol/L) は溶液中のリガンドの濃度、 $C_{\text{Ads,max}}$ (mol/kg) は飽和リガンド吸着濃度、 K_{Lang} (L/mol) は吸着平衡定数である。また、空き吸着点の濃度を C_f (mol/kg) とすると、 K_{Lang} は質量作用の法則により式 (2) で、 $C_{\text{Ads,max}}$ は式 (3) で表される。

$$K_{\text{Lang}} = C_{\text{Ads}} / (C_{\text{Sol}} C_f) \quad (2)$$

$$C_{\text{Ads,max}} = C_{\text{Ads}} + C_f \quad (3)$$

以上の理論式を回帰分析により実験値に当てはめて、各 Langmuir 吸着パラメータを決定した。

結果

ストロンチウムおよびセシウム同時曝露下における *Chlorella* の生育

硝酸 Sr 溶液および塩化 Cs 溶液を同時に同一最終濃度 1-100 μM になるように培地に添加した時の *Chlorella* の生育曲線を Fig. 1 に示した。Sr と Cs がそれぞれ 50 μM 程度までの濃度では、曝露がない時とほぼ同じ生育速度を示した。さらに曝露濃度を 100 μM まで上昇させると、曝露直後から細胞同士が凝集を始め、24 時間後には生育がほぼ停止した。このことから、*Chlorella kessleri* 11h では 50 μM 程度までの濃度まで生育阻害をほとんど生じさせずに Sr と Cs を細胞に負荷できることが明らかとなった。

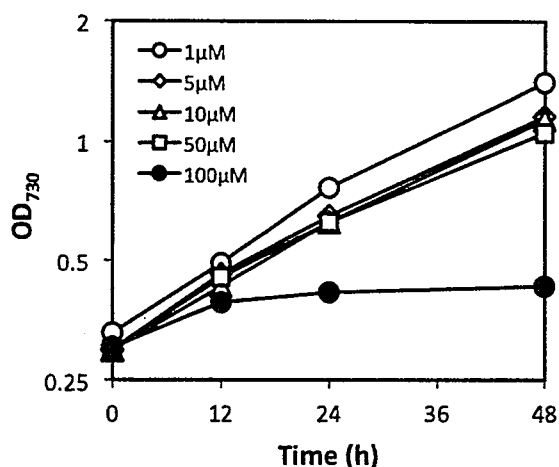


Fig. 1 Sr および Cs 同時曝露時の *Chlorella* の生育
培養液に硝酸 Sr 溶液および塩化 Cs 溶液を同時に同一濃度で添加して、48 時間培養した。

ストロンチウムの捕集

硝酸 Sr 溶液を最終濃度 1-10 μM になるように培地に添加した時の *Chlorella* の乾燥重量あたりの Sr 捕集量の経時変化を Fig. 2A に示した。乾燥重量あたりの Sr 捕集量は、曝露後 1 時間以内に速やかに平衡に達し、10 μM 曝露時には約 0.6 μmol · g dry wt.⁻¹ の捕集量を示し、その後ほぼ一定であった。5 μM Sr 曝露後 24 時間

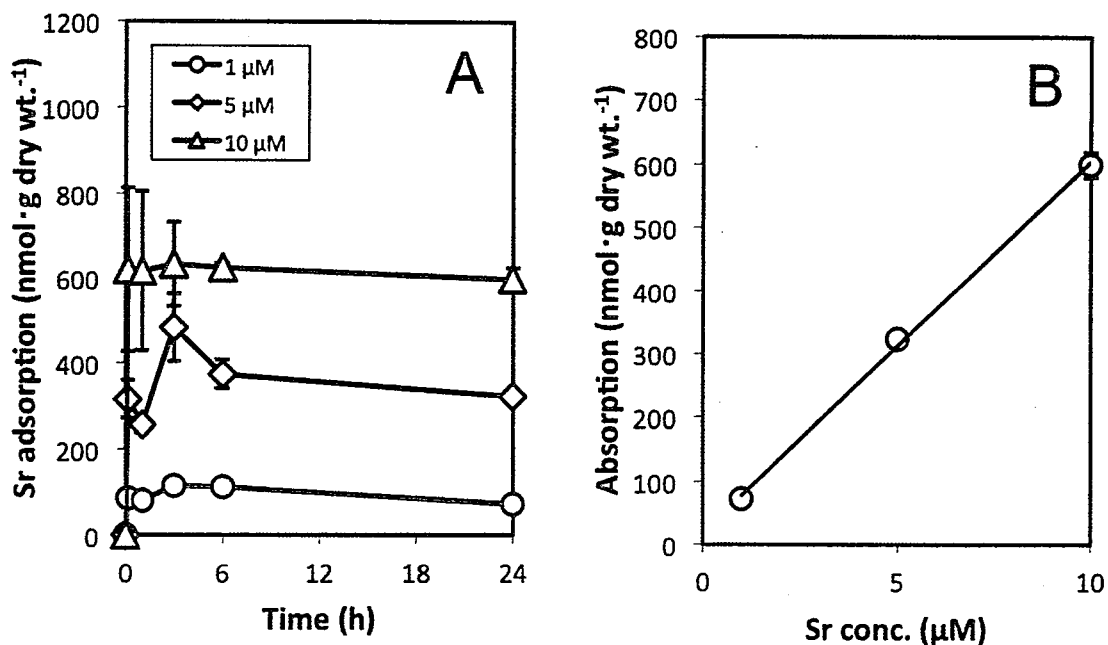


Fig. 2 *Chlorella kessleri* 11h によるストロンチウムの捕集

A) 培養液に硝酸 Sr 溶液添加した後の、細胞の Sr 含量の経時変化、B) 曝露 24 時間経過後の細胞の Sr 捕集量と Sr 曝露濃度の関係

経過時の *Chlorella* における Sr の細胞-溶液分配比 K_d は、約 56 倍であった。曝露 24 時間経過後の細胞の Sr 捕集量は、Sr 曝露濃度の上昇に伴い直線的 ($R^2 = 0.98$) に増加することが明らかとなった (Fig. 2B)。Langmuir の吸着モデルでは、リガンドの濃度が吸着点の濃度に対して十分小さいときに固相に吸着したリガ

ンド濃度と溶液中のリガンド濃度が直線相関する。そこで、本実験で得られた *Chlorella* の Sr 捕集データを Langmuir の吸着モデルで吸着パラメータを解析したところ、飽和リガンド吸着濃度 $C_{\text{ads,max}}$ が $3.2 \text{ mmol} \cdot \text{Kg}^{-1}$ 、吸着平衡定数 K_{Lang} は 2.3×10^4 となった。

セシウムの捕集

塩化 Cs 溶液を最終濃度 $1\text{-}10 \text{ } \mu\text{M}$ になるように培地に添加した時の *Chlorella* の乾燥重量あたりの Cs 捕集量の経時変化を Fig. 3A に示した。乾燥重量あたりの Cs 捕集量は、 $10 \text{ } \mu\text{M}$ 曝露時には 6 時間で約 $0.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g dry wt.}^{-1}$ に増加し、その後も増加をし続けて曝露 24 時間経過後には、約 $0.5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g dry wt.}^{-1}$ に達した。一方、 $5 \text{ } \mu\text{M}$ 以下の濃度で Cs を曝露した時には、6 時間目以降、捕集量の増加は認められず、24 時間まで一定であった。また、細胞の Cs 捕集量と Cs 曝露濃度関係では、高濃度曝露時に、より Cs 捕集量が多くなることが明らかとなった (Fig. 3B)。 $5 \text{ } \mu\text{M}$ Cs 曝露後 24 時間経過時の *Chlorella* における Cs の K_d は約 35 倍であった。ここで得られた *Chlorella* の Cs 捕集データについても Langmuir の吸着モデルで回帰分析を試みたが相関が悪く (データ未掲載)、*Chlorella* の Cs 捕集メカニズムが Langmuir 型の吸着モデルだけでは説明できないことが示された。

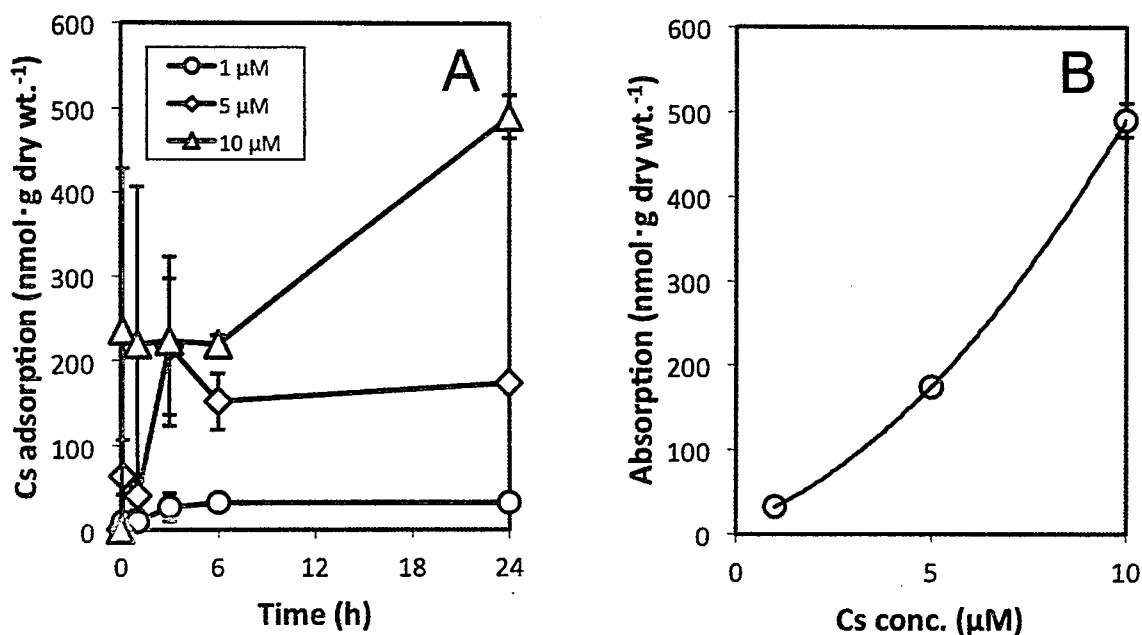


Fig. 3 *Chlorella kessleri* 11h によるセシウムの捕集

A) 培養液に塩化 Cs 溶液添加した後の、細胞の Cs 含量の経時変化, B) 曝露 24 時間経過後の細胞の Cs 捕集量と Cs 曝露濃度の関係

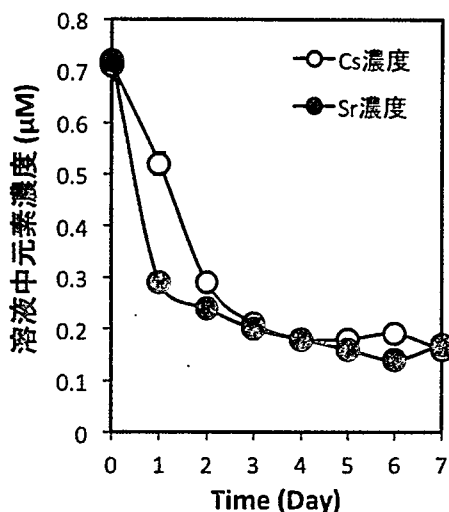


Fig. 4 *Chlorella* を用いた Sr と Cs 同時除去システムの検証

固相表面連続循環培養システム上で *Chlorella* が 2 mg dry wt.・cm²まで生育したところで, Sr と Cs を初期濃度 0.7 μM になるように培養液 (全量 100 mL) に添加して固相表面を通じて循環した。Sr と Cs の除去回収率は, いずれも 7 日目までに 77% に達した。

Chlorella を利用した Sr と Cs の同時除去システムの構築

ここまでの実験で, 生きた *Chlorella* には数十 μM 程度までの濃度の Sr と Cs を短期間で捕集する能力があることが示された。そこで実際に *Chlorella* を用いた Sr と Cs の同時除去システムを構築して, Sr と Cs 回収の試験を行った。*Chlorella* を効率よく育成し維持するための培養システムとして, 都筑らが開発し昨年本紀要で発表¹¹⁾した固相表面連続循環培養システム (Solid-Surface Continuous Culture; SSCC) を用いた。固相面積が 25 cm² の SSCC システムを準備して *Chlorella* が 2 mg dry wt.・cm²まで生育したところで, Sr と Cs の初期濃度を変えて 50 倍希釈したガンボグ B5 培養液 (全量 100 mL) に添加して, *Chlorella* が生育している固相表面を約 2 mL・min⁻¹ の流速で循環した。除去試験の一例として, Sr と Cs を 0.7 μM の初期濃度になるように添加した時に, 培養液中の Sr と Cs の濃度を経時的に測定した結果を Fig. 4 に示した。培養液中の Sr 濃度は最初の 1 日で 6 割減少した後, 7 日目には 0.17 μM にまで低下した。一方, Cs 濃度は Sr よりも減少速度がやや遅く, 6 割減少するのに 2 日を要したが, その後は Sr 濃度と同様に 7 日目までに 0.16 μM にまで低下した。このときの本除去システムによる Sr と Cs の除去回収率は, いずれも 7 日目までに 77% に達した。以上の結果から, 微細藻類を用いて, 連続して液体中に溶解した Sr と Cs を同時に除去するシステムが構築可能であることが示された。

考察

放射性ストロンチウムおよびセシウム吸着剤としての *Chlorella* の能力

地殻中に自然に存在する Sr の濃度は約 0.034%, Cs の濃度は約 3 ppm であると見積もられている¹²⁾¹³⁾。また, 日本の一般的な河川水中に自然に存在する Sr の濃度は μM 以下, Cs の濃度は nM 以下のレベルであると報告されている¹⁴⁾。今回, 生きた *Chlorella* に対して曝露した 10 μM という元素濃度は, 通常の河川水中濃度の Sr では 10 倍以上, Cs では 10,000 倍以上の濃度に相当する。また, この濃度の Sr は, 全てが放射性 ⁹⁰Sr であったと仮定すると 4.6 GBq・L⁻¹ の放射能を持つ。同様に Cs は, 全てが放射性 ¹³⁷Cs であったと仮定すると 4.4 GBq・L⁻¹ の放射能を持つ。この濃度レベルの Sr と Cs を *Chlorella* 細胞が吸着可能であることが明らかになったことから, *Chlorella* は, 自然に存在する Sr と Cs に加えて, 原発事故により環境中に放出された放射性 Sr

微細藻類を利用したストロンチウムおよびセシウムの回収

と Cs を回収除去する生きた吸着剤として十分な捕集能力を備えているといえる。

また、*Chlorella* への放射性 Sr の最大結合能を非放射性 Sr で得られた飽和リガンド吸着濃度より換算した結果、*Chlorella* 1 g dry wt.あたり最大 1.5 GBq の放射性 ^{90}Sr を結合し得ることが示唆された。一方、*Chlorella* への放射性 Cs の最大結合能は、Langmuir 型の吸着モデルによる推定ができなかったため、新たなモデルにより今後明らかにする課題として残されたが、実験値から *Chlorella* 1 g dry wt.あたり少なくとも 200 MBq 以上の放射性 ^{137}Cs を吸着可能であることが確かめられた。

Chlorella によるストロンチウムおよびセシウムの捕集メカニズム

Chlorella 細胞が Sr や Cs を捕集するメカニズムを推定するうえで、カドミウムなどの重金属を捕集するメカニズムが参考になる。微細藻類の細胞表面には、多糖類やタンパク質などからなる高分子物質が取り巻いている。これらの細胞表面高分子は負電荷を持っており、この負電荷に引き寄せられて、カチオンであるカドミウム等の重金属が細胞表面に吸着されて捕集される。したがって、カチオンである Sr や Cs の捕集にもこの静電的吸着メカニズムが作用していると推定された。実際、*Chlorella* 細胞による Sr の捕集パターンが Langmuir 型の吸着モデルに従うことが確認できた。

一方で、*Chlorella* 細胞による Cs の捕集パターンは Langmuir 吸着モデルに従わなかった。曝露初期の急速な Cs 捕集は吸着によるものと推定されたが、その後の数十時間続くゆっくりとした Cs 捕集のメカニズムは吸着以外にあると考えられた。Plato と Denovan¹⁵⁾は、生きた *Chlorella pyrenoidosa* による Cs の捕集がカリウム(K)の捕集と競合することを報告している。*Chlorella* において K の捕集は、細胞膜を隔てたイオンポンプによる輸送が関与することが知られている¹⁶⁾。Cs イオンは 1 価のカチオンであり、K イオンと化学的に類似した挙動を示す。したがって、*Chlorella kessleri* の Cs 捕集では、吸着とイオンポンプによる取込みの両方のメカニズムが働いているものと推定される。この詳細については、阻害剤を用いた解析を準備中である。

微細藻類を利用した汚染水処理の展望

微細藻類を利用して放射性物質を回収するバイオレメディエーション技術の特徴は、簡便で大掛かりな装置が不要で、吸着後の放射性廃棄物を脱水により容易に減容化が可能なことである。生きた微細藻類を利用した汚染水処理システムは、基本的に光エネルギーと培養液が供給されていれば吸着剤となる藻類自身が自己増殖するために安価に長期間連続して除染を続けることができる。また、同時に地球温暖化ガスである CO_2 も除去可能であり、効率的な藻類の生育には CO_2 が有用な資源となりえる。さらに、利用する微細藻類の選択により (例えばオイル生産藻など)、バイオマスからエネルギーを生み出す技術と融合させることも可能かもしれない。

本研究では、生きた *Chlorella* を利用した Sr と Cs の同時除去システムのプロトタイプを完成させて、7 日間連続稼働させる間におよそ 8 割の Sr と Cs を培養液から回収することに成功した。現在、システムの連続稼働期間の延長と Sr と Cs の回収率向上を目指した技術開発を行っており、今後、多くの水環境の除染に適用して、原発事故からの早期の復興に貢献したいと考えている。

引用文献

- 1) 経済産業省原子力安全・保安院, 東京電力株式会社福島第一原子力発電所の事故に係る1号機, 2号機及び3号機の炉心の状態に関する評価について, 平成23年6月.
<http://www.meti.go.jp/press/2011/06/20110606008/20110606008-2.pdf>
- 2) 内閣府原子力災害対策本部, 原子力安全に関するIAEA 閣僚会議に対する日本国政府の報告書-東京電力福島原子力発電所の事故について, 平成23年6月.
http://www.kantei.go.jp/jp/topics/2011/iaea_houkokusho.html
- 3) Ken Buesseler et al.(2012), Fukushima-derived radionuclides in the ocean and biota off Japan. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(16): 5984-5988.
- 4) 日本原子力研究開発機構, 福島第一原子力発電所事故に係る避難区域等における除染実証業務【除染技術実証試験事業編】報告書, 平成24年6月.
http://www.jaea.go.jp/fukushima/kankyoanzen/d-model_report/report_3.pdf
- 5) Kazuyuki Ishii et al., A Challenge to the Removal of Radioactive Cesium Deposited in the Environment By Using Fiber-supported Prussian Blue. PBAST6, Taipei, 2012-5
- 6) 伊藤久義ら(2012), 高分子捕集材等を用いた環境汚染除去技術の開発, *放射化学*, 93:31-36.
- 7) 農林水産省農林水産技術会議, 農地土壌の放射性物質除去技術(除染技術)について, 別添4各技術についての解説, 平成23年9月.
<http://www.s.affrc.go.jp/docs/press/110914.htm>
<http://www.s.affrc.go.jp/docs/press/pdf/110914-04.pdf>
- 8) Mikio Tsuzuki and Shigetoh Miyachi(1991), CO₂ syndrome in *Chlorella*. *Can. J. Bot.* 69(5): 1003-1007.
- 9) 内田滋夫ら(1995), 分配係数の測定法及び利用法, 放射線医学総合研究所, 電力中央研究所, 日本原燃株式会社, 日本原子力研究所, JAERI-Review, 95-009.
- 10) Irving Langmuir(1918), The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *J. Am. Chem. Soc.*, 40(9): 1361-1403.
- 11) 都筑幹夫ら(2012), 人工光利用による微細藻類の生産技術開発, *東京薬科大学研究紀要*, 第15号, p9・p16.
- 12) Capo RC, Stewart BW, Chadwick OA(1998), Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods. *Geoderma*, 82: 197-225
- 13) Karl Turekian and Karl Hans Wedepohl(1961), Distribution of the elements in some major units of the Earth's crust. *Geological Society of America Bulletin* 72(2): 175-192.
- 14) 岩下正人ら(1995), 相模川下流域, 中小支流河川水中の微量元素濃度, *環境化学*, 5(3): 585-596.
- 15) Phillip Plato and James Denovan(1974), The influence of potassium on the removal of ¹³⁷Cs by live *Chlorella* from low level radioactive wastes. *Radiation Botany*, 14(1): 37-41.
- 16) HW Tromballa(1980), Electrogenicity of Potassium Transport in *Chlorella*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 96(2): 123-133.