

μ -XANES を用いた環境浄化植物の細胞レベルにおける Cd の化学状態分析

Study on the chemical form of Cd in cells of the hyper-accumulator plant by using μ -XANES

保倉明子^a、福田直樹^a、柏原輝彦^a、小沼亮子^a、北島信行^{a,b}、中井 泉^a、寺田靖子^c

A. Hokura^a, N. Fukuda^a, T. Kashiwabara^a, R. Onuma^a, N. Kitajima^{a,b}, I. Nakai^a, Y. Terada^c

^a東京理科大学理学部、^bフジタ、^c高輝度光科学研究センター

^aFaculty of Science, Tokyo University of Science, ^bFujita Co., ^cJASRI

放射光高エネルギーマイクロビームを用いて、カドミウム超集積植物におけるカドミウムの蓄積部位を細胞レベルで明らかにした。アンジュレーター光を 37 keV に単色化し K-B ミラーにより 1 ミクロン程度に集光した X 線マイクロビームを用いることで、ハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri* ssp. *gemmifera*) の葉の表皮組織である毛状突起細胞 (トライコーム) において、カドミウムが高濃度に蓄積している様子が明らかになった。また蓄積が顕著だった部位に対して、Cd の K 吸収端のマイクロ XANES 測定を行なったところ、カドミウムは二価のイオンであり、硫黄と結合した化学種として存在していることが示唆された。

The distribution of cadmium at cell level and its chemical form in the hyperaccumulator plant were studied by μ -XRF and μ -XANES techniques utilizing a high-energy X-ray microbeam. The X-rays from the undulator were monochromatized with a Si(111) double crystal monochromator and focused with a K-B mirror to *ca.* 1 μm^2 . The X-ray energy was set to 37 keV. The distribution of Cd in the leaves of *Arabidopsis halleri* ssp. *gemmifera* was observed very clearly. It was found that Cd highly accumulated in the trichome tissues on the surface of the leaves. Furthermore, the μ -XANES spectrum indicated that Cd was present as a form of divalent ion bonding with sulfur in the trichomes.

背景と研究目的

カドミウムは、鉱物や土壌などの中に存在する重金属であるが、特に鉱山廃水等による水田土壌の汚染により米のカドミウム濃度が高くなる地域が存在することが問題となっている。この危害要因の低減のため、現在、客

土等による汚染農地の復元対策が行なわれている。一方、最近では植物を用いて環境修復を行うファイトレメディエーションが低コスト・低環境負荷型浄化技術として注目されている¹⁾。

このように植物による重金属汚染除去を

効率よく行うために、汚染元素を高濃度に蓄積する植物の探索と遺伝子組み換えによる植物作出などのバイオエンジニアリングが求められている。しかし、これらの重金属超集積性植物(hyperaccumulator)が毒性元素を高濃度に蓄積する生理機構については未解明の点が多い。これは、これは植物などの生体試料を非破壊で分析する手法が限られていたことが原因のひとつといえる。

われわれは放射光マイクロビームを利用した蛍光X線分析2次元イメージングとX線吸収端近傍構造(X-ray absorption near edge structure, XANES)解析を行なうことで、植物にヒ素やカドミウムなどの重金属が蓄積する機構の解明を目指して研究を行なっている²⁻⁴⁾。本研究では、特に2004年に開発されたX線集光素子⁵⁻⁶⁾を用いた高エネルギーX線マイクロビームの利用により、植物組織・細胞レベルにおける重金属の蓄積部位と化学形態を*in vivo*で測定し、環境浄化植物におけるカドミウムの吸収・移行・蓄積のメカニズムを解明することを目的とした。

試料

カドミウムの超集積性植物であるハクサンハタザオ(*Arabidopsis halleri* ssp. *gemmifera*)⁷⁾を試料として用いた。カドミウムを添加した培地で栽培して実験に供した。

測定

実験はBL37XUで行なった。アンジュレーター光をSi(111)二結晶分光器で単色化し、K-Bミラー⁵⁻⁶⁾で集光して得られた約1ミクロンのマイクロビームを用いた。X線のエネルギーはカドミウムのK線の励起効率がよい

37 keVとした。X線を試料に照射し、試料ステージを走査して含有元素の蛍光X線2次元イメージングを行った。また50ミクロン程度のビームを用いて葉全体におけるカドミウムの分布についても測定を行なった。次に蓄積がみとめられた点において、カドミウムのK吸収端(26.712 keV)のマイクロXANES測定を行なった。入射X線のエネルギーを26.70-26.76 keVの範囲で1 eVずつ走査し、試料から発生するカドミウムのK α 線をSi(Li)-SSDで検出した。いくつかのカドミウム化合物(金属カドミウムCd、酸化カドミウムCdO、硫化カドミウムCdS、メタロチオネイン-カドミウムCd-MT、グルタチオン-カドミウムCd-GSH)についても測定を行ない、実試料から得られたXANESスペクトルと比較を行なった。

結果と考察

葉全体におけるカドミウムと亜鉛のXRF2次元イメージングの結果を図1に示す。ハクサンハタザオにおいては、カドミウムが葉表面の毛状突起組織(トライコーム)に高濃度に蓄積されていることが明らかとなった。また葉肉全体におけるカドミウムの分布は亜鉛の分布と似た傾向を持ち、両者には正の相関があることが示された。一方、1ミクロンサイズのマイクロビームの適用により、カドミウムはトライコーム内において均一に分布しているのではなく、局所的に濃集している様子が明らかとなった。その高濃度に蓄積された測定ポイントにおけるマイクロXANES測定の結果を図2に示す。いくつかのカドミウム化合物から得られたXANESスペクトルと比較したところ、図に見られるように、カド

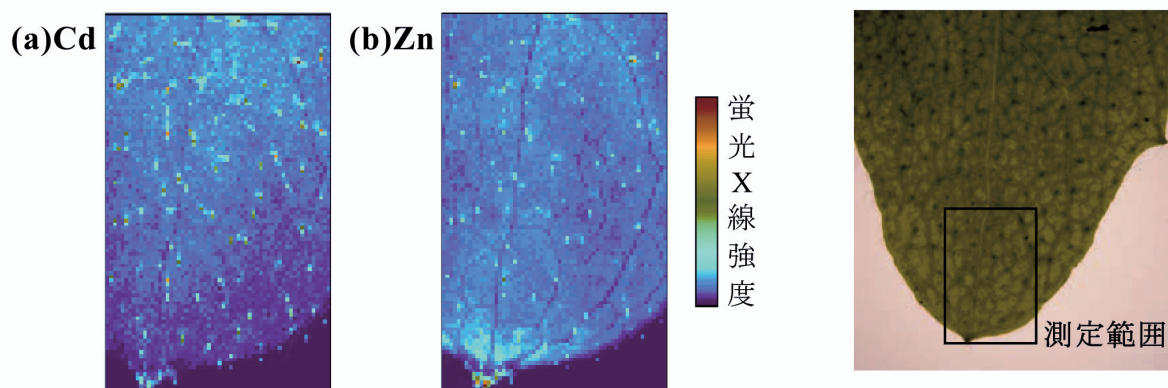


図1 ハクサンハタザオの葉におけるカドミウムと亜鉛の XRF2 次元イメージング結果 X線エネルギー: 37 keV, ビームサイズ: $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$, 測定点数: 60 点 $\times$ 100 点, 測定時間: 1 秒/点.

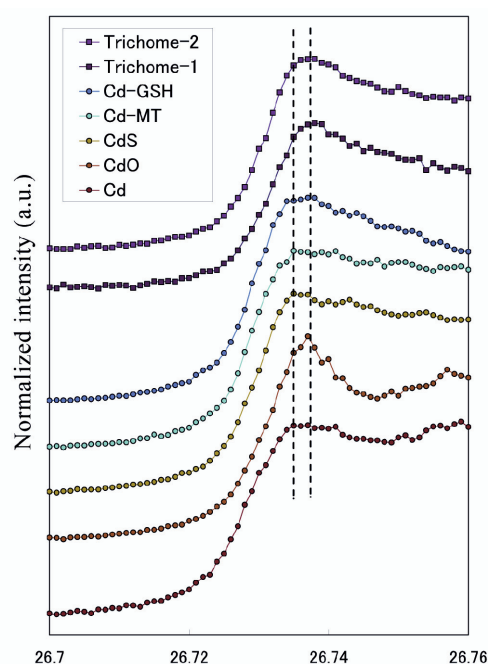


図2 カドミウム K 吸収端の μ -XANES スペクトル
ビームサイズ: $1.5\ \mu\text{m} \times 1.5\ \mu\text{m}$.

ミウムは 2 価の状態が存在し、Cd-GSH など Cd-S 結合を含むカドミウム化合物と似ていることがわかった。詳細な化学形態については、今後検討していく予定である。

参考文献

1) I. Raskin and B.D. Ensley: *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*, John Wiley & Sons, Inc. (1999).

2) A. Hokura, R. Onuma, Y. Terada, N. Kitajima, T. Abe, H. Saito, S. Yoshida and I. Nakai: *J. Anal. At. Spectrom.*, **21** (2006) 321–328.
3) N. Kitajima, R. Onuma, A. Hokura, I. Nakai, Y. Terada: *Proceedings of XRM2005, IPAP Conference series*, in press.
4) R. Onuma, A. Hokura, N. Kitajima, I. Nakai, Y. Terada, T. Abe, H. Saito, S. Yoshida: *Proceedings of XRM2005, IPAP Conference series*, in press.
5) A. Takeuchi, Y. Suzuki, Y. Terada, M. Awaji: *SPring-8 Activity report 2004B*, p. 125.
6) Y. Terada, A. Takeuchi, Y. Suzuki: *SPring-8 Activity report 2005A*, p. 170.
7) H. Kubota and C. Takenaka: *Int. J. Phytoremediation*, **5** (2003) 197.

論文発表状況・特許状況

[1] R. Onuma, A. Hokura, N. Kitajima, Y. Terada, H. Saito, T. Abe, I. Nakai: in preparation.
[2] 福田直樹, 小沼亮子, 柏原輝彦, 保倉明子, 中井泉, 北島信行, 齊藤宏之, 阿部知子, 第 67 回分析化学討論会 (口頭発表).
[3] 保倉明子, 小沼亮子, 福田直樹, 中井泉, 北島信行, 寺田靖子, 齋藤宏之, 阿部知子, 第 67 回分析化学討論会 (口頭発表).

キーワード

- ・ファイトレメディエーション

植物が生育土壌から水や無機成分を摂取する力を利用して汚染土壌の改質を行う技術で、対象の汚染が重金属元素の場合には、それらを植物体内に蓄積させることで土壌の浄化を行うものであり、アメリカでは実用化開始段階にある。このように植物を用いて土壌の重金属汚染浄化を行なうことは、植物が本来持っている生物機能を活用した環境にやさしい技術であり、最近注目を集めている。