

[原著]

## 温泉水のバイオマットにおける放射性元素の濃集

藤澤亜希子\*・田崎和江\*\*

Accumulation of radioactive elements and biomineralization in hot spring microbial mats in Japan

FUJISAWA, Akiko\* and TAZAKI, Kazue\*\*

## Abstract

Misasa Hot Springs in Tottori Prefecture is known as one of hot springs in which concentration of high radium (Ra) and radon (Rn) are very high. Especially  $^{226}\text{Ra}$  is highly contained in the microbial mats consist of mainly ferrihydrite compound. The accumulation of radioactive elements by microorganisms was examined by optical microscopy, EDXRF, AAS, SEM, and TEM observations in combination of STEM-EDS. In the green parts of microbial mats, ferrihydrite and calcite are formed by increasing pH and dissolved oxygen (DO) induced by photosynthesis of cyanobacteria, such as *Oscillatoria* spp. and *Phormidium* spp., suggesting the  $^{226}\text{Ra}$  is adsorbed to cyanobacterial cells. Whereas, coccus and bacillus typed bacteria are found in reddish brown parts under beneath. Observation by TEM of the ultra thin section of the cells showed that the bacteria produced extracellular polymers around the cell wall and capsules, cause embedding of granule ferrihydrite and calcite. The cells tended to be adsorbed highly  $^{226}\text{Ra}$  on the capsule and slime layer of bacterium, because they contain negatively charged carboxylate in rich. The interactions among the cells, ferrihydrite and  $^{226}\text{Ra}$  contribute to environmental factors influencing the biomineralization processes. The radioactive elements at microbial mats were able to support the growth of resistant bacteria to enable bioremediation.

Key words : accumulation, radioactive elements, biomineralization, Misasa Hot Springs, Radium

## 1. はじめに

日本はプレート収束境界にあたり、島弧火成活動が活発な地域であり、マグマを熱源とする温泉が数多く分布している。また、熱源がない場所においても、最近の掘削技術の進歩によって、深さ1 km以上の深度から温泉水を汲み上げることが可能となっている。これらの温泉の泉質は、きわめて多様性に富んでおり、食塩泉が最も多く、次いで単純温泉、硫黄泉が主であり、放射能泉は全体の約8%である (Horiuchi, 2001)。放射能泉とは、ラジウム (Ra) やラドン (Rn) といった放射性元素を含んでいる温泉を指し、温泉法によると水1 kg中に111ベクレル (Bq) 以上

のRnを含有している温泉を放射能泉と規定されている (湯原・瀬野, 1991; 飯島, 1998; 大久保, 2006)。

鳥取県三朝温泉は、高濃度のRnを含有する有数のRn, Ra泉として知られている (御船, 1981; 堀内, 1978, 2001)。三朝温泉付近は中生代に形成された小鴨型花崗岩 (黒雲母花崗岩) が広く分布して基盤を構成しており、この花崗岩中のRaおよびRnが温泉水中に溶出して、高濃度のRa, Rn泉が生成されている。三朝温泉は平均Rn濃度が436.6 Bq/lであり、含Rn-Na-Cl泉およびRn-Na-Cl-HCO<sub>3</sub>泉である。温泉に起因するRnの大気への放出量は $1.3 \times 10^9$  Bq/日と推定されている (Iwasaki, 1994)。三朝温泉におい

2007年2月15日受付, 2007年6月22日受理

\* 〒920-1192 石川県金沢市角間町 金沢大学大学院自然科学研究科

Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University, Kakuma, Kanazawa, Ishikawa 920-1192, Japan.

\*\* Corresponding person, E-mail : kazueta@kenroku.kanazawa-u.ac.jp

て、Ra は鉄化合物あるいは Mn 化合物を主成分とする温泉沈殿物に、多量に含まれることが報告されている (岩崎, 1969; 御船, 1981; 古野ほか, 1981)。

また、Ra はアルカリ土類金属の性質を示し、 $^{226}\text{Ra}$  は  $^{238}\text{U}$  系列に属しており、 $^{230}\text{Th}$  が半減期 7 万 5 千年で  $\alpha$  崩壊して生成される放射性元素である。さらに、 $^{226}\text{Ra}$  は半減期 1600 年で  $\alpha$  崩壊して  $^{222}\text{Rn}$  に壊変する。また、 $^{222}\text{Rn}$  は半減期 3.825 日で  $\alpha$  崩壊し  $^{218}\text{Po}$  に壊変する放射性のガス成分であり、温泉水中ではほとんど他の溶存化学成分との相関はなく、単独に存在している (堀内, 2001)。

カナダやアメリカの様々なウラン鉱床帯において分離した 800 種の微生物について、U の濃縮能のスクリーニングテストを行った結果、*Bacillus subtilis* および *Arthrobacter* sp. が極めて優れた U 濃縮能を持っていることが明らかとなった (Sakaguchi and Nakajima, 1991)。これらの菌を利用して、U 精錬廃水などの含核燃料元素廃水から、U を効率的に回収する方法が研究されている。このように、U 環境下での微生物学的な研究は多くなされてきたが、Ra に関する研究は非常に少ない。永井ほか (2001) は、三朝温泉と同じ高濃度の放射性 Rn および Ra を有する山梨県増富鉱泉において、球菌、桿菌、珪藻および水酸化鉄で構成される褐色バイオマットが、Ra を取り込んでいることを報告している。

一方、三朝温泉では、温泉水および温泉沈殿物について、放射化学的研究は数多く行われてきたが、放射性元素の挙動と微生物の働きに関する情報は乏しい。三朝温泉において、微生物学的観点から Ra の挙動について明らかにすることは、汚染環境の修復や保全の方法を考える上で糸口となる。

そこで、本研究では三朝温泉で採取した温泉水およびバイオマットの電子顕微鏡による詳細な観察を行い、特に Ra に注目してバイオマットへの放射性元素の濃縮と水酸化鉄鉱物のバイオミネラリゼーションについて研究を行った。

## 2. 試料および実験方法

鳥取県倉吉市から約 10km 東に位置する東伯郡三朝町の三朝温泉内 (Fig.1A) において、数箇所までガイガーカウンターを用いて放射線測定を行い、特に高い値を示した三朝神社内の飲泉場で調査および試料採取を行った。試料は飲泉場に湧出する温泉水 (Fig.1B, 矢印 b) および湧出口から岩に沿って流れ落ちる部分に形成していたバイオマット (Fig.1B, 矢印 a) を採取し、以下の分析および観察を行った。バイオマットは表面が緑色、内部が茶褐色を呈しており、厚さは 1.5~2.0mm であった。

### 2-1. 水質測定および放射線測定

2002年12月10日および2003年4月5日に、三朝町の三朝神社の飲泉場において温泉水の水質測定 (pH; 水素イオン濃度, ORP; 酸化還元電位, EC; 電気伝導度, DO; 溶存酸素量, WT; 水温) を行った。それぞれの測定には HORIBA カスタニー LAB pH メーター (D-21), HORIBA カスタニー ACT pH メーター (D-14), HORIBA カスタニー ACT 導電率メーター (ES-12), TOA ハンディ 溶存酸素メーター (DO-21P) を用いた。2回の測定結果は、ほぼ同様の値を示したので、2003年4月5日に測定した結果のみを示す (Table 1)。 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  線測定にはガイガーカウンター Inspector を用いて、現地で温泉水、バイオマット、岩石、大気 (バックグラウンド) の測定を行った。

### 2-2. エネルギー分散型蛍光 X 線分析 (EDXRF; Energy Dispersive X-ray Fluorescence Analysis)

三朝神社で採取したバイオマットおよび温泉水をエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置 (JEOL JSX-3201, Rh-K $\alpha$  線源) を用いて、加速電圧 30kV, 真空雰囲気中で FP バルク法により定性分析および半定量分析を行った。分析時間は 600 秒、分析領域は約 10mm x 10mm である。

### 2-3. Ge 半導体検出器を用いた放射能および原子吸光度法 (AAS; Atomic Absorbed Spectrometer) 定量分析

温泉水およびバイオマット中に含まれる  $^{238}\text{U}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Th}$  について、ウエル型ゲルマニウム半導体検出器を用いて  $\gamma$  線を測定した。試料を自然乾燥させ、放射平衡に達するまで 2~3 週間放置した後測定を行った。 $^{238}\text{U}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  および  $^{228}\text{Ra}$  はこの検出器では直接測定できないが、それぞれの親核種と放射平衡にあり  $\gamma$  線を放出する娘核種  $^{214}\text{Pb}$  および  $^{228}\text{Ac}$  を用いて定量値を求めた。

温泉水およびバイオマット中の Total Fe, Mn については、フレイム原子吸光度法で定量分析を行った。バイオマットは自然乾燥させた後、質量を測定し、濃硝酸と過塩素酸を 5 対 1 で混ぜ合わせた混酸 50 ml 中に溶かし、それを加熱分解させ 5 ml に濃縮した。その後、イオン交換水を加えて 50ml に希釈し、ろ過した後のろ液を用いて測定を行った。フレイム原子吸光度法にはセイコー電子工業製 SAS-727 を使用した。分析波長は、Fe: 249.0nm, Mn: 280.0nm で測定を行った。

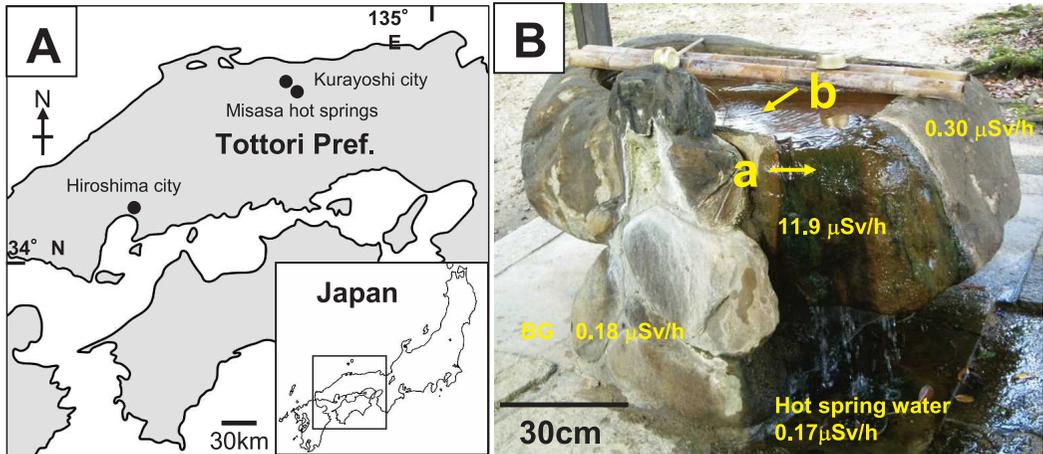


Fig.1. A. Locality map of Misasa Hot Springs in Tottori Prefecture, Japan. B. Sampling points of green and reddish brown microbial mats (arrow a) and hot spring water (arrow b). Radio activities are: back ground (BG 0.18  $\mu\text{Sv/h}$ ), hot spring water (0.17  $\mu\text{Sv/h}$ ), the surface of granitic rock (0.30  $\mu\text{Sv/h}$ ) and microbial mats (11.9  $\mu\text{Sv/h}$ ).

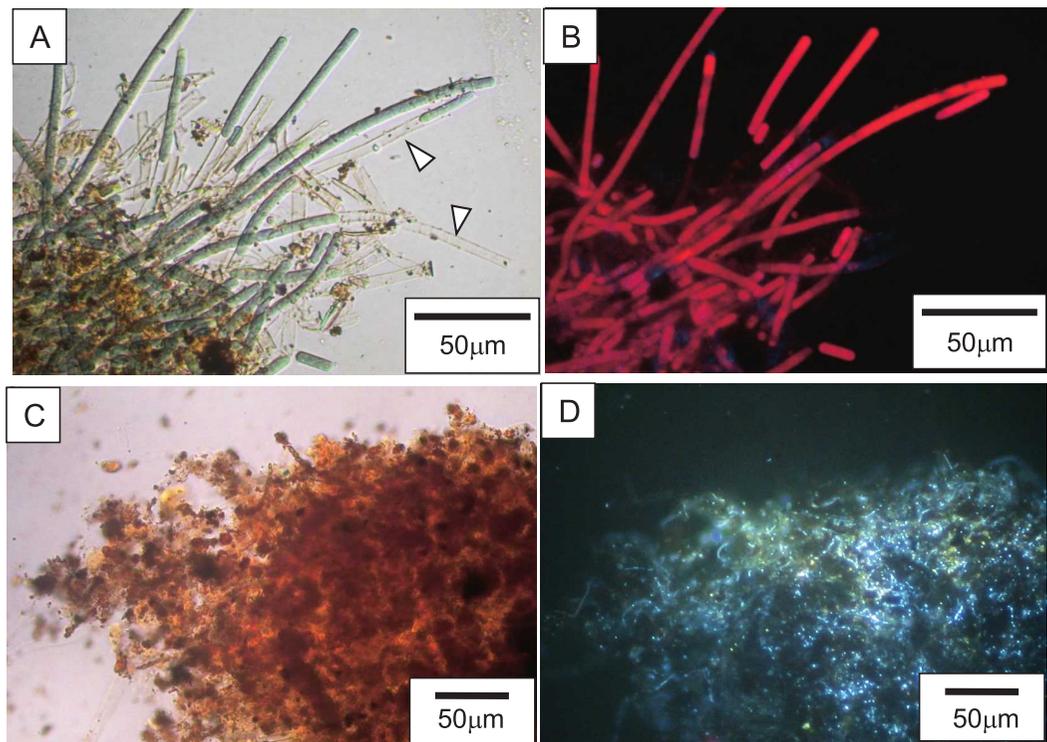


Fig. 2. Optical light micrograph of green parts of the microbial mats in Fig.1.

- A. Arrows show cyanobacteria which have sheath.
- B. Fluorescence micrograph shows the presence of the chlorophyll indicated by red fluorescence.
- C. Optical light micrograph of reddish brown parts of the microbial mats shows granular mineral particles.
- D. Fluorescence micrograph reveals the presence of abundant living bacteria indicated by blue fluorescence.

#### 2-4. 微分干渉光学顕微鏡および蛍光顕微鏡観察

バイオマット中の微生物の形態を観察するため、微分干渉光学顕微鏡および落射蛍光顕微鏡 (Nikon OPTIPHOT-2/LABOPHOT-2) を用いた。バイオマットは表面の緑色部分と、内部の茶褐色部分に分けて観察を行った。また、フィルター (UV-1 A; 波長 365nm) を通して観察すると、細胞の DNA が青色に呈する DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole) を用いて、微生物の生息を確認した。

#### 2-5. 走査型電子顕微鏡 (SEM; Scanning Electron Microscopy) 観察

三朝神社で採取したバイオマット中の微生物表面の微細構造と形態を観察するため、SEM (JEOL JSM-5200LV) を観察を行った。バイオマットは凍結乾燥後、炭素蒸着を施し、加速電圧 15kV の条件で観察した。

#### 2-6. 透過型電子顕微鏡 (TEM; Transmission Electron Microscopy) 観察

バイオマット中の微生物の細胞構造を明らかにするために、TEM (JEOL JEM-2000EX) を用いて加速電圧 120kV で観察を行った。また、微細構造中に認められる鉱物の同定を行うために、制限視野電子線回折 (SAED; Selected Area Electron Diffraction) 分析を行った。さらに、微生物莢膜を染色するため、墨汁法およびルテニウムレッド法を用いた後、エポキシ樹脂に包埋し、約 500 オングストロームの厚さにウルトラミクロトーム (JEOL EM-ULTRACUT R) で超薄切片を作成し微生物の細胞の断面観察を行った。ここで、墨汁法とは、細菌莢膜を直接染色するのではなく、墨汁の粒で背景を染める事で、その中に細菌莢膜を浮き出させて観察する方法である。また、ルテニウムレッド法とは、6 価の陽イオン錯体であるルテニウムレッドが酸性多糖類と結合することで、細胞外の細菌莢膜を染色する方法である。さらに、視野に対応した微小領域の化学組成分析を行うため、透過型電子顕微鏡 (JEOL JEM-2010FEF) を用いて加速電圧 200 kV で、また、エネルギー分散分析計を備えた走査型透過電子顕微鏡 (STEM-EDS: Scanning Transmission Electron Microscopy - Energy Dispersive Spectrometer) を用いて分析時間 200 秒、分析領域約 3 ミクロンで元素分布図およびスペクトルをとり、さらに、エネルギーフィルタ電界放出形電子顕微鏡 (EF-TEM; Energy Filter Field emission Electron Microscope) でゼロ-ロス像を作成した。

### 3. 結果

#### 3-1. 水質測定および放射線測定結果

三朝町内にある三朝神社の飲泉場の水質測定結果を Table 1 に示す。2003 年 4 月 5 日に測定した温泉水の水質は pH 7.2 とほぼ中性、EC は 1.3 mS/cm、ORP は 226 mV とやや酸化性であり、DO は 1.5 mg/l と低い値を示し、水温は 42°C であった。

Table 1. Characteristics of the hot spring water at Misasa hot springs.

	pH	ORP (mV)	EC (mS/cm)	DO (mg/l)	WT (°C)
Hot spring water	7.2	226	1.3	1.5	42.0

measurement date: 2003.04.05.

三朝神社における放射線測定結果を Fig. 1B に示す。三朝神社において、大気のパックグラウンド (BG)、温泉水、花崗岩でできた水槽の部分は 0.17 ~ 0.30  $\mu$ Sv/h と低い値を示すのに対し、温泉水が流れているバイオマットの表面では 11.9  $\mu$ Sv/h とバックグラウンドと比較すると、約 100 倍もの非常に高い値を示した。すなわち、バイオマットが形成している部分のみ放射線が高い値を示すことが明らかである。

#### 3-2. ED-XRF 分析結果

バイオマットおよび温泉水の ED-XRF 分析結果を Table 2 に示す。バイオマットの化学組成は Na より軽い元素を除き、Fe が最も高く 66.0 wt%、次に Mn が 15.3 wt%、Si が 6.9 wt%、Ca が 5.0 wt%、As が 4.9 wt% で構成されている。その他 S, K, Cu, Sr, Ba を微量に含んでいる。一方、温泉水は主に Na (28.1 wt%)、Si (34.2 wt%)、S (23.2 wt%) を含み、その他少量の Mg, K, Ca から構成されている。

Table 2. XRF analysis of chemical compositions of microbial mats and hot spring water at Misasa Hot Springs.

microbial mats (wt.%)		Hot spring water (wt.%)	
Si	6.9	Na	28.1
P	n.d.	Mg	2.7
S	0.5	Si	34.2
K	0.2	S	23.2
Ca	5.0	K	4.5
Ti	n.d.	Ca	7.2
Mn	15.3	Total	100
Fe	66.0		
Cu	0.6		
As	4.9		
Sr	0.2		
Ba	0.3		
Total	100.0		

(n.d.; not detected)

Table 3. Comparison of concentrations of  $^{238}\text{U}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Th}$ , Total Fe, and Mn between microbial mats and hot spring water at Misasa Hot Springs. The microbial mats accumulated all elements.

	$^{238}\text{U}$ (Bq/kg)	$^{226}\text{Ra}$ (Bq/kg)	$^{228}\text{Ra}$ (Bq/kg)	$^{228}\text{Th}$ (Bq/kg)	Total Fe (ppm)	Mn (ppm)
Microbial mats	6.4	$6.9 \times 10^4$	$8.3 \times 10^4$	$8.8 \times 10^3$	$2.2 \times 10^5$	$6.2 \times 10^4$
Hot spring water	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.4 \times 10^{-1}$	$1.6 \times 10^{-1}$	$5.1 \times 10^{-3}$	$1.0 \times 10^{-1}$	$1.2 \times 10^{-1}$

### 3-3. Ge 半導体検出器を用いた放射能および原子吸光光度法 (AAS) 定量分析結果

Ge 半導体検出器を用いた $^{238}\text{U}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Th}$  および AAS 分析による Total Fe, Mn の定量分析結果を Table 3 に示す。特に,  $^{226}\text{Ra}$  は温泉水中に  $0.14\text{Bq/kg}$  であるのに対し, バイオマット中には  $6.9 \times 10^4\text{Bq/kg}$  と非常に高い値を示している。Total Fe, Mn は温泉水中にそれぞれ  $0.10\text{ppm}$ ,  $0.12\text{ppm}$  と少ないのに対し, バイオマット中には  $2.2 \times 10^5\text{ppm}$ ,  $6.2 \times 10^4\text{ppm}$  と非常に多く含まれている。すなわち, 温泉水と比較して, バイオマットには $^{238}\text{U}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Th}$ , Total Fe, Mn がすべて  $10^3 \sim 10^5$  倍もの高い値で濃縮していることが明らかである。

### 3-4. 微分干渉光学顕微鏡および蛍光顕微鏡観察結果

三朝温泉で採取したバイオマットの緑色部分を光学顕微鏡で観察した結果, 主に鞘を持つシアノバクテリアで構成されていることが明らかになった (Fig.2A, 矢印)。形態やサイズなどの特徴から *Oscillatoria* spp. *Phomidium* spp. と同定された。また, この試料に DAPI 染色を施して蛍光顕微鏡下で観察したところ, 赤色の自家蛍光を呈すクロロフィルが認められた (Fig.2B)。さらに, バイオマットの茶褐色部分を光学顕微鏡で観察したところ, 主に茶褐色の微細粒子からなる沈殿物が認められた (Fig.2C)。この試料に DAPI 染色を施して蛍光下で観察したところ, 青色の蛍光を呈していることから, 沈殿物中に多量の微生物の生息を確認した (Fig.2D)。

### 3-5. 走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察結果

三朝神社のバイオマットの微細形態を調べるため, SEM による観察をおこなったところ, 直径約  $5000\text{nm}$  のシアノバクテリア (Fig.3A, 矢印) および写真の中央部分に直径  $1000\text{nm}$  の微細粒子とともに微生物が塊状を呈しているのが観察された (Fig.3A 中央)。

### 3-6. 透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察結果

さらに, バイオマット中の微生物細胞を調べるため, 透過型電子顕微鏡で観察した結果, 微細粒子で覆

われたシアノバクテリアの鞘に, 長さ約  $1000\text{nm}$ , 幅約  $500\text{nm}$  の桿菌が付着している様子 (Fig.3B), 微細な鉱物粒子と直径約  $500\text{nm}$ , 幅約  $300\text{nm}$  の桿菌 (Fig.3C) が認められた。これらの微細鉱物粒子の電子線回折 (SAED) を行ったところ,  $0.266\text{nm}$ ,  $0.157\text{nm}$  にリング状の回折を示したことから, 低結晶性の水酸化鉄鉱物である Ferrihydrite ( $5\text{Fe}_2\text{O}_5 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) であると同定した。この微細な鉱物粒子は, 桿菌の細胞周囲を粘着物質とともに取り囲んでいる。この粘着物質は負電荷を持ったポリマーで, 繊維状の多糖類からなる微生物の莢膜であると示唆された。そこで, その莢膜の存在を調べるため, 墨汁染色を施し, TEM 観察を行ったところ, 長さ約  $500\text{nm}$ , 幅約  $300\text{nm}$  の桿菌細胞の周囲を厚い莢膜が取り囲んでいる状態が観察できた。墨汁の粒により背景を染める事で浮き出された厚い莢膜は桿菌の4-6倍の体積を持っている (Fig.3D, 矢印)。この細胞周囲を覆っている莢膜の厚さは  $200 \sim 800\text{nm}$  ある。また, ルテニウムレッド法を用いて微生物莢膜の染色を施した超薄切片の TEM 観察を行ったところ, 微生物の断面構造が認められた (Fig.4A, B)。直径  $500\text{nm}$  の微生物は細胞膜 (CM), ペプチドグリカン層 (PG), 外膜 (OM) からなる2重膜を持ち, 外膜から細胞の外側に向かって繊維状の  $20 \sim 50\text{nm}$  の莢膜 (CAP) が伸びている (Fig.4A)。さらに, 2重膜を持ち,  $50 \sim 200\text{nm}$  のネットワーク状の莢膜で覆われている細胞も認められた。その莢膜の最も外側の部分には直径約  $100\text{nm}$  の微細鉱物粒子が付着している (Fig.4B)。Fig.4A の微生物莢膜は外膜と接しているが, Fig.4B の微生物莢膜は外膜から  $50\text{nm}$  程離れている。

厚い莢膜を持つ球菌の EF-TEM のゼロ-ロス像 (Fig.5A) および鉱物粒子(1), カプセル(2), 細胞(3), バックグランド(4)のそれぞれの STEM-EDS スペクトル (Fig.5B) とゼロ-ロス像の範囲の元素濃度分布図 (Fig.5C) を示す。鉱物粒子には主に C, O, Si と Fe が (Fig.5B-1), 球菌の細胞部分には C, N, O, Na, P, Ca と Mn が (Fig.5B-3), 莢膜部分には C, N, O, Si が認められた (Fig.5B-2)。細胞内には Mn が Fe より多く存在している特徴がある (Fig.5B-3)。ここで, バックグランド (Fig.5B-4) で示したように C が全て

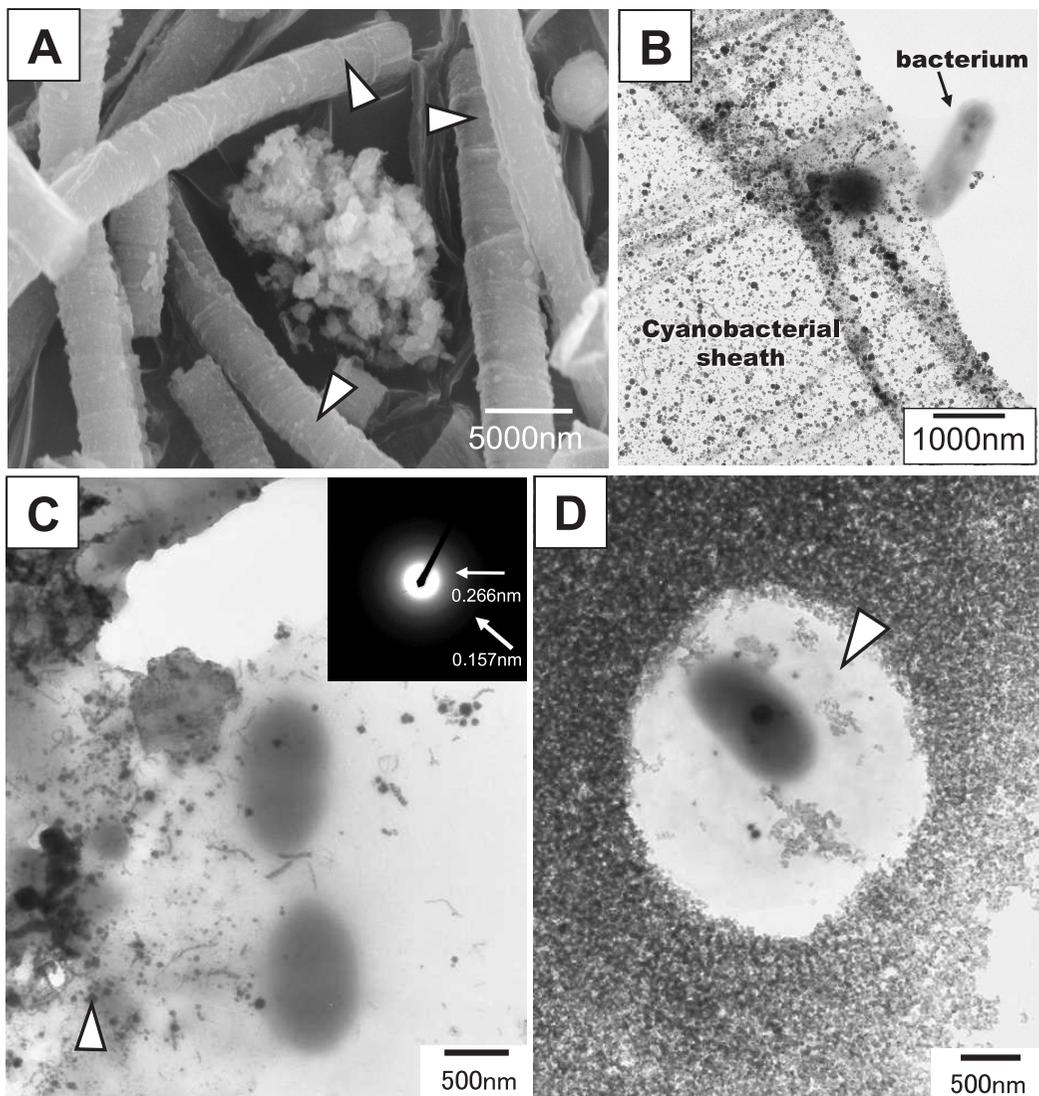


Fig.3. A. SEM photograph of microbial mats at Misasa Hot Springs shows cyanobacterial sheath (arrows) and granular mineral particles in the center.  
 B. TEM photograph of microbial mats shows cyanobacterial sheath associated with bacillus typed bacterium.  
 C. TEM image of microbial mats. Bacillus typed bacteria about 500 nm in diameter are spread on the bacterial slime layer. SAED pattern of the granular mineral particles (arrow) shows diffraction at 0.266 nm and 0.157 nm indicating Ferrihydrate ( $5 \text{Fe}_2\text{O}_5 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ ) (insert C).  
 D. Indian ink method gives the shape boundary of capsule around the cell. The bacterial capsule contrasted with black back ground (arrow).

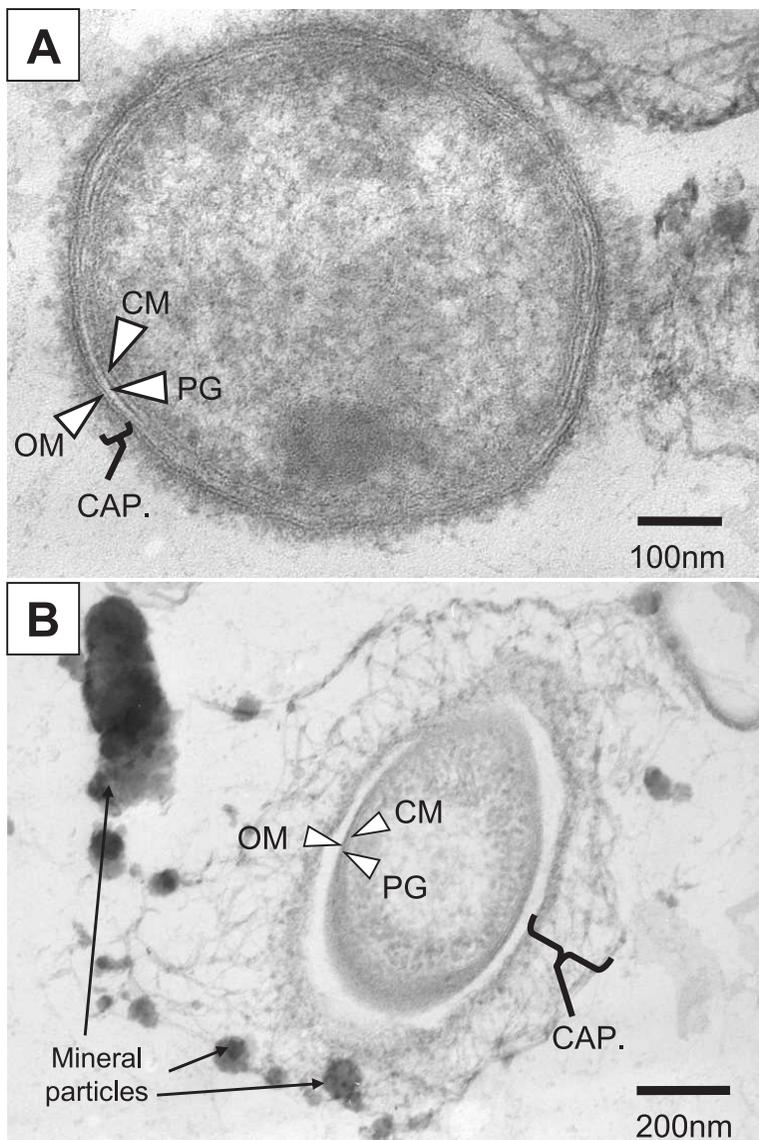


Fig.4. TEM micrographs of ultra thin section of reddish brown microbial mats stain by ruthenium red.

- A. cytoplasmic membrane (CM), peptidoglycan layer (PG), the outer membrane (OM) and capsule (CAP) of bacterial cell. The bacterial cell is covered with capsule extending ~50 nm from the surface of the outer membrane (CAP in A).
- B. The bacterial cell is covered with slime layer constructed by network structure of polysaccharide fibers 200~500 nm in thickness (CAP in B). Spherical mineral particles attach on the surface of networked capsule.

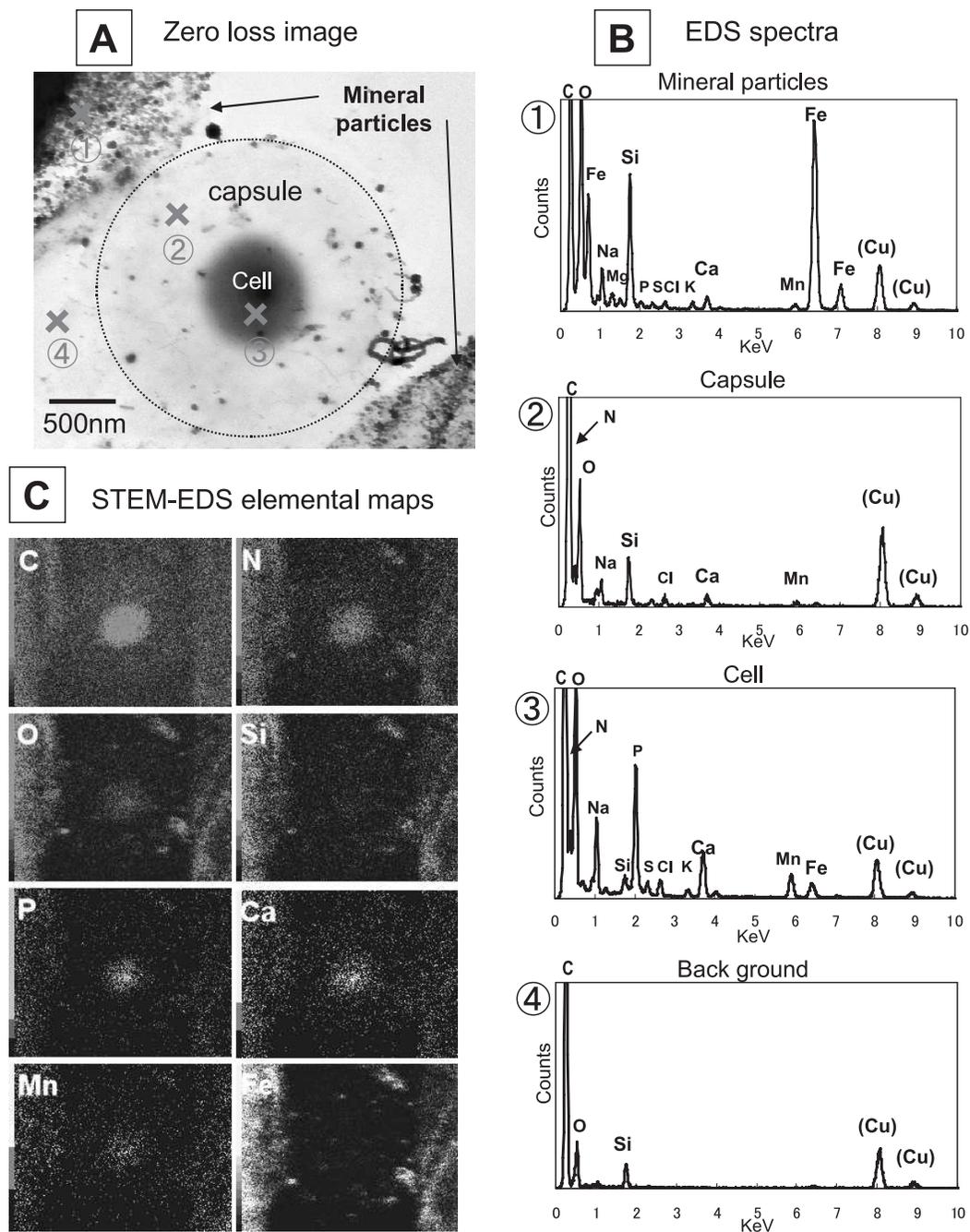


Fig.5. A. EF-TEM Zero loss image.

B. EDS spectra.

C. STEM-EDS elemental maps of coccus type bacterium associate with capsule. The bacterium and capsule contained high C, N, O, P, Ca and Mn elements, while the mineral particles contained C, O, Si, Ca Mn and Fe. EDS analytical points indicated Mineral particles ①, Capsule ②, Cell ③, and Back ground ④ in A and B.

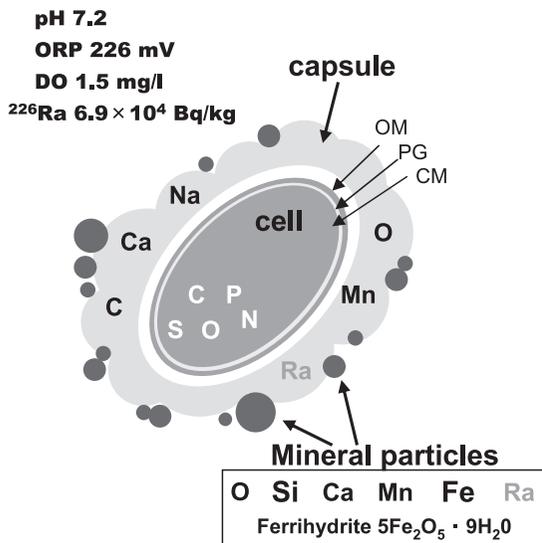


Fig.6. Schematic diagram of a cross-sectioned bacterium cell, capsule and mineral particles in microbial mats. The bacterial capsule plays an important role of accumulation of C, N, O, Ca, Mn and Ra from hot spring water under pH7.2 and reduction conditions. (CM; cytoplasmic membrane, PG; peptidoglycan layer, OM; outer membrane)

において検出されるのは、試料を載せたグリッド表面にカーボン蒸着を施してあるためである。なお、Siのピークは、バックグラウンド領域内にSiの微粒子が存在していたためである。さらに、(Cu)は試料を載せてあるグリッドの成分である。以上の観察および分析結果を Fig.6に図示した。

#### 4. 考察

##### 4-1. 放射線とバイオマット

本研究において、三朝町の三朝神社でガイガーカウンターを用いた $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 線測定の結果、バイオマット上で大気(バックグラウンド)の約100倍もの高い放射線値を示した。また、Ge半導体検出器を用いた放射能定量分析結果からも、放射性元素である $^{226}\text{Ra}$ は温泉水中と比較して、約10<sup>5</sup>倍もの非常に高い値でバイオマット中に濃縮されていることが明らかとなった。永井ほか(2001)によれば、同じく高濃度のRn、Raを有する山梨県増富温泉において、球菌、桿菌、珪藻および水酸化鉄鉱物で構成される褐色バイオマットは、水酸化鉄鉱物が有害元素、重金属、放射性核種を水酸化鉄鉱物表面に吸着させ、固定する役割をもつと報告している。またTazaki and Watanabe (2004)は、秋田県玉川温泉においてpH1.2の強酸性環境下で赤褐色バイオフィーム中の微生物が、硫化鉄物を形成することによって、S, Ba, Ca, Asの濃集を行っ

ていることを報告している。同様に、三朝温泉においてもバイオマットが形成する過程において、微生物や水酸化鉄鉱物が放射性元素であるRaを取り込み、高い放射線値を示す事が明らかになった。すなわち、いずれの放射能泉においても、高い放射線値は、そこに生息する微生物と生体鉱物形成が密接に関連することを示している。

##### 4-2. バイオマットへの $^{226}\text{Ra}$ 濃縮メカニズム

Raはアルカリ土類金属であり、天然には $^{223}\text{Ra}$ 、 $^{224}\text{Ra}$ 、 $^{226}\text{Ra}$ 、 $^{228}\text{Ra}$ の4種の同位体を持つ。その中で、一般的なRaとは、U系列核種の $^{226}\text{Ra}$ を指し、半減期1622年で $\alpha$ 壊変して $^{222}\text{Rn}$ となる。水中では通常原子価は2価であり、同じアルカリ土類金属であるCaやBaと似た挙動を示す。

温泉水中の $^{226}\text{Ra}$ はGe半導体検出器を用いた放射能定量分析結果から、非常に高い値でバイオマット中に濃縮されていることが明らかとなった。しかし、ED-XRF、STEM-EDS分析結果からRaは検出限界以下であったことから、Ra濃縮と言ってもここでは数ppm以下と考えて議論を進める。バイオマットへの $^{226}\text{Ra}$ 濃縮には、1)微生物細胞表面および莢膜への $^{226}\text{Ra}$ 吸着、2)水酸化鉄鉱物粒子への $^{226}\text{Ra}$ 吸着の2つの作用が考えられる。以下にそれぞれについて検討を行った。

##### 1) 微生物細胞表面および莢膜への $^{226}\text{Ra}$ 吸着

一般的に微生物の細胞表面は負に帯電しており、水中の陽イオンが細胞表面に吸着されやすい(Beveridge, 1978)。また、TEM観察から、バイオマット内部の茶褐色部分に生息する球菌や桿菌は外膜の外側に繊維状およびネットワーク状の莢膜を持つことが認められた。この莢膜は、2~6個の糖サブユニットの繰り返しからなるポリサッカライドで構成されており(Sutherland, 1972)、細胞壁に比較的強く結合した莢膜(capsule)と細胞から外れることもある粘質層(slime layer)に分類される(Beveridge, 1989)。莢膜ポリマーはしっかりと結合しており、墨汁の粒子を通さないが、99%が水であるため金属イオンは簡単に入り込むことができる。莢膜中のカルボキシル基や、中性の糖ユニット中の水酸基は、莢膜や粘質層において陰イオンサイトとなる(Corpe, 1964; 1975)。同様に、Appanna and Preston (1987)は、莢膜はポリサッカライドやタンパク質の高く水和した非晶質な固まりであり、カルボキシル基とリン酸基を多く含むため、陰電荷を持つネットワーク状構造を形成しており、金属陽イオンとの反応の場であることを報告している。これらの報告から、微生物の細胞表面および莢膜は負の電荷を持つため、温泉水中に溶存してい

る $^{226}\text{Ra}^{2+}$ が容易に吸着されると考えられる。

同じ放射性元素であるUの微生物による取り込みについては多くの研究がなされている。微生物によるUの取り込みは、pH、接触時間、U濃度、細胞濃度、陽陰イオンの共存など様々な要因によって影響を受ける。また、Uの取り込み量は、微生物の種によって大きく異なる。一般的な污泥処理に用いられるグラム陰性細菌の*Zoogloea ramigera*は、400mg/gのUを取り込む。この菌は、膨大な量の細胞外多糖類を生成し、Uの取り込みは、ウラニル基( $\text{UO}_2^{2+}$ )と細胞外多糖類の陰イオンサイトであるカルボキシル基との錯化の結果と考えられている(Norberg and Persson, 1984)。これらの報告からも、微生物細胞および莢膜への $^{226}\text{Ra}$ 吸着が裏付けられる。よって、本研究においても、 $^{226}\text{Ra}$ のシアノバクテリアへの吸着や微生物細胞が生成する莢膜への吸着が行われていると考えられる。

## 2) 鉱物粒子表面への $^{226}\text{Ra}$ 吸着

三朝温泉において、Raは鉄化合物あるいはMn化合物を主成分とする温泉沈殿物に多量に( $1.3 \times 10^6$  Bq/kg)含まれることが報告されている(岩崎, 1969; 御船, 1981; 古野ほか, 1981)。本研究においても、バイオマットは低結晶性の水酸化鉄鉱物FerrihydriteとCalciteで構成されていることが明らかとなった。水酸化鉄鉱物Ferrihydriteは広い表面積( $25 \times 10^5 \text{m}^2/\text{kg}$ )を持つため、有害元素、重金属、放射性核種を鉱物表面に吸着する働きを持つ(Schwertmann and Fitzpatrick, 1992)。また、Waite *et al.*(1994)によるとFerrihydriteはその鉱物表面に、中性水溶液中の6価ウランを吸着することが報告されている。すなわち、中性の温泉水中でバイオマットが形成され、その中の水酸化鉄鉱物FerrihydriteとCalciteの表面に6価ウランが吸着される。同時に微生物の細胞外多糖類のカルボキシル基との錯化の結果、バイオミネラル化が生じる。そして、その生体鉱物粒子の表面に $^{226}\text{Ra}$ が吸着されると考えられる。したがって、三朝温泉に形成したバイオマット中でも、微生物の細胞表面や莢膜への吸着に加え水酸化鉄鉱物粒子への吸着の両者によって、 $^{226}\text{Ra}$ 濃縮が行われると考えられる。

本研究で得られたバイオマットへの高いRa濃縮の事実から、ウラン鉱床や鉱さい捨て場において、温泉中の微生物により放射性元素を効率的に回収できる可能性がある。また、人体にとって有害な重金属汚染や放射線障害を与える汚染地域において、温泉のバイオマットとバイオミネラル化は持続可能な環境修復法として期待される。

## 5. まとめ

鳥取県三朝温泉においてGe半導体検出器を用いた放射能定量分析結果から、放射性元素である $^{226}\text{Ra}$ は温泉水中と比較して、約 $10^5$ 倍もの非常に高い値でバイオマット中に濃縮されていることが明らかとなった。三朝温泉で採取したバイオマット中にはシアノバクテリアおよび多くの球菌や桿菌が生存しており、 $^{226}\text{Ra}$ はこれらの莢膜や粘質層などの細胞外物質をはじめとし、そこに付着する微細な水酸化鉄鉱物粒子に吸着している。バイオマット中の非常に高い $^{226}\text{Ra}$ 値と微生物による濃縮作用は放射性物質の汚染地域における環境修復法を考える糸口となる。

## 謝辞

金沢大学自然計測応用研究センター、低レベル放射能実験施設の山本政儀博士には、Ge半導体検出器を用いた放射線測定で大変お世話になった。また、本研究を行うにあたり、田崎研究室の院生・学生の皆様に調査・実験の協力および多くの助言をいただいた。以上の方々に厚く御礼申し上げる。なお、本研究の一部には文部省科学研究費補助金(No.14405001.代表、田崎和江)が使用された。さらに、本論文を査読し、有益なご助言をくださった2名の査読者に感謝申し上げます。

## 引用文献

- Appanna, D.V., and Preston, C. M.(1987) Manganese elicits the synthesis of a novel exopolysaccharide in anarctic *Rhizobium*. *FEBS Lett.* **215**, 79-82.
- Beveridge, T. J.(1989) The structure of bacteria. In: Poindexter, J.S., Leadbetter, E.R.(Eds) *Bacteria in Nature*, pp.1-65. Plenum Publ, New York.
- Beveridge, T. J.(1978) The response of cell walls of *Bacillus subtilis* to metals and to electron-microscopic stains. *Can. J. microbial.* **24**, 89-104.
- Corpe, W. A.(1964) Factors influencing growth and polysaccharide formation by strain of *Chromobacterium violaceum*. *J. Bacteriol.* **88**, 1433-1437.
- Corpe, W. A.(1975) Metal-binding properties of surface materials from marine bacteria. *Dev. Ind. Microbiol.* **16**, 249-255.
- 古野勝志・御船政明・森永寛(1981)三朝温泉水配管内の温泉沈殿物について(続報). 岡山大学温泉研究所報告書 **51**, 35-42.
- 堀内公子(1978) 鉱泉中のラジウム, ラドン同時定量に関する研究その1-三朝, 勝浦, 白浜, 湯ヶ島, 網代, 増富におけるラジウム, ラドンの同時定量値について-. 温泉科学 **29**, 68-75.

- 堀内公子 (2001) 日本の温泉と放射線. 日本放射線技術学会雑誌 **57**, 1462-1468.
- Horiuchi, K., (2001) Hot Springs and its radiation in Japan. *Japanese Society of Radiological Technology* **57**, 1462-1468.
- 飯島裕一 (1998) 温泉の医学. 講談社, 東京, 231pp.
- 岩崎岩治 (1969) 温泉水中のラジウム ( $^{226}\text{Ra}$ ) の分布と強放射能線の生成機構 (その4). 温泉工学会誌 **7**, 16-24.
- Iwasaki T (1994) Population. Dostmetry and Helth. 体質研究会誌 **5**. 33.
- 久保田一雄 (2006) 温泉療法. 金芳堂, 京都, 92pp.
- 御船政明 (1981) 放射能線と三朝温泉. 温泉科学 **31**, 80-93.
- 永井香織・田崎和江・田中義太郎 (2001) 山梨県増富鉱泉のバイオマットにおける砒素の濃集. 島根大学地球資源環境学研究報告 **20**, 179-188.
- Norberg, A., and Persson, H. (1984) Accumulation of heavy-metals ions. *Zoogloea ramigera*. *Biotech Bioeng.* **26**, 239-246.
- Sakaguchi, T., and Nakajima, A. (1991) "Mineral Bioprocessing". In : Smith, R.W. and Misra, M. (Eds) *The Minerals, Metals & Materials Society, USA* pp.309-322.
- Schwertmann, U., and Fitzpatrick, R.W. (1992) Iron minerals in surface environment. In : Skinner, H.C. W. and Fitzpatrick, R.W. (Eds) *Biom mineralization processes of Iron and Manganese—Modern and Ancient Environments*. Catena Suppl. Germany No.21, 7-30.
- Sutherland, J. W. (1972) Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. *Adv. Microb. Physiol.* **23**, 79.
- Tazaki, K., and Watanabe, H. (2004) Biom mineralization of radioactive sulfide minerals in strong acidic Tamagawa Hot Springs. *The Science Reports of Kanazawa University* **49**, 1-24.
- Waite, T. D., Davis, J. A., Payne, T. E., Waychunas G. A., and Xu, N. (1994) Uranium (VI) adsorption to ferrihydrite : Application of a surface complexation model. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **58**, 5465-5478.
- 湯原浩三・瀬野錦蔵 (1991) 温泉学. 地人書館, 東京, 293頁.