

# 広石谷川に生息するコケ類および藻類と重金属の関係

杉内 脩太郎 片岡 あい 松岡 菜奈

## 【概要】

徳島県名西郡を流れる広石谷川の上流には広石銅山跡があり、城南高校の過去の課題研究で高濃度の重金属が流入していることがわかっている。そのような流域にもコケや藻類が生えており、私たちは、なぜ広石谷川のコケや藻類は高濃度の重金属に対応できるのかということに疑問を持ち、そのようなコケ類や藻類が合成する有機物および取り込んでいる重金属を調べることで、重金属に対する耐性の仕組みや特異性を見つけることを目標とした。有機物の定性には、薄層クロマトグラフィー(以下 TLC)とガスクロマトグラフィー質量分析(以下 GC/MS)を行った。金属の定量には、誘導結合プラズマ質量分析法(以下 ICP-MS)を行った。その結果、エチル 9-ヘキサデセン、ヘキサデカン酸エチルエステルは、広石谷川の珪藻からのみ検出され、重金属を含まない川の珪藻からは検出されなかった。よって、この 2 種類の有機物は広石谷川に生息する珪藻に特異的に発現するものだと考えられる。ICP-MS で分析した結果、Cu、Zn は広石谷川の上流に行くにつれ著しく増加した。よって、この珪藻は Cu、Zn を体内に取り込んでおり、この 2 つの有機物が Cu、Zn を無毒化する、または Cu、Zn を比較的体に影響の出にくい液胞や細胞壁に運んでいるという可能性がある。またハネヒツジゴケについては、河川中の重金属濃度の高い流域に生息しているものでも Cu、Zn の含有量は少く、Cu、Zn を体外へ排出していると考えられる。このような重金属耐性の仕組みを利用すれば、植物で河川や排水に含まれる Cu や Zn を取り除くことができるようになる。これには、化学物質を使わずに植物の力で浄化するので、生態系を崩さずに済むという利点がある。

The Hiroishitani River flows near a former copper mine, which leaches high concentrations of heavy metals into the water. This study looks for the reason why moss living in the river can survive. We use Thin-Layer Chromatography and Gass Chromatography Mass Spectrometry for analysis. As a result, some moss contains the same two organic matter, Ethyl 9-hexadecenoate and Hexadecanoic acid, ethyl ester. So we think these two components allow the moss to tolerate heavy metals.

## 【研究動機・目的】

広石谷川は、徳島県名西郡を流れる鮎喰川の支流である。この川の上流には広石銅山跡があり、城南高校の過去の課題研究で広石谷川には高濃度の重金属が流入していることがわかっている。その中でも最も濃度の高い流域では、河川水の標準物質と比較してマンガンが 1,385 倍、銅が 1,255 倍、亜鉛が 16,164 倍の濃度で含まれていた。また、水がめ中の重金属の濃度は、河川水の標準物質と比べてマンガンが 19,168 倍、銅が 41,593 倍、亜鉛が 25,4410 倍、カドミウムが 76,618 倍と非常に高かった。

広石谷川の高濃度の重金属が検出される流域では、魚類や水生昆虫などの水生生物の存在は

確認されていないが、そのような流域にもコケや藻類が生えていた。そのことを知って、私たちは、なぜ広石谷川のコケや藻類は高濃度の重金属に対応できるのか、ということに疑問を持ち研究を行うことにした。今回の研究では、コケ類や藻類が合成する有機物および取り込んでいる重金属を調べることを目的とした。広石谷川に生息するコケ類・藻類に共通する有機成分、取り込む金属の種類や量を調べることによって、重金属に対する耐性の仕組みや特異性を見つけることを目標とした。

## 【実験器具】

○薄層クロマトグラフィー (以下 TLC)

酢酸エチル 10ml、なすフラスコ、超音波発生装置、TLCプレート、ガラス細管、展開槽、展開液 10ml（ヘキサン：酢酸=4：1）、紫外線照射装置、ホットプレート、アルミホイル、インキュベーター、30%セリウム硫酸

○ガスクロマトグラフィー質量分析  
 エバポレーター、パストゥールピペット、シリカゲル、ガスクロマトグラフィー質量分析装置

○誘導結合プラズマ質量分析法  
 電子天秤、認証標準物質（ホウレンソウ）、乾燥機、インサート容器灰化ボトル、硝酸、純水、マイクロ波試料前処理装置、ICP質量分析装置

【実験方法】

4月26日に広石谷川で採集を行った。採集箇所は、広石谷川6箇所と銅山から直接引かれた水の入った水がめの計7箇所である。場所は右図にある①～⑥で、水がめは第6ポイントの横



図1 広石谷川（略図）

にある。今回の採集では、広石谷川の川の水がかかる範囲で生えているコケ類および藻類を対象に採集した。鮎喰川との合流地点である第1ポイントでは水生生物が確認できたが、それより上流の第2ポイントからは見られなかった。また、第5ポイントでは水が青色に濁っていた。



図2 ポイント⑤の様子

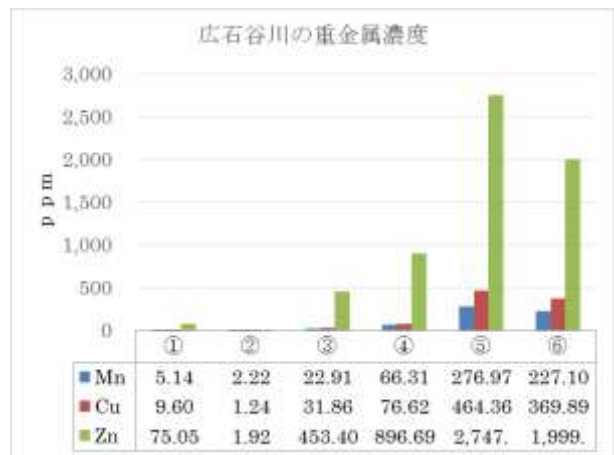


図3 広石谷川の重金属濃度（2012年度城南高校課題研究より）



図4 ⑤ポイントの珪藻

分析をしやすくするために採集してきたコケ類・藻類を乾燥させ、ごみや他の植物を取り除いた後、なすフラスコにサンプルと酢酸エチル 10ml を入れ、超音波を 5 分間あてた。その後、ガラス細管で TLC プレートにスポットィングを行った。そのスポットに現れた物質を GC/MS 分析装置にかけた。またマイクロ波試料前処理装置でサンプルを液化し、ICP 質量分析装置で分析を行った。

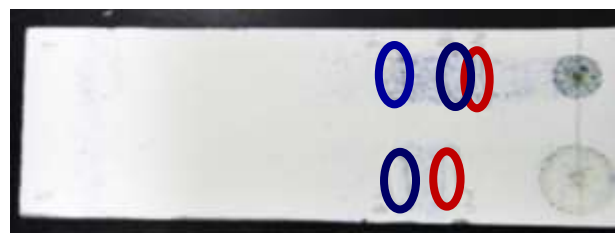


図5 ポイント③（上）ポイント⑤（下）で採集した珪藻の抽出液を展開した TLC シート（丸囲みは、UV、BL 照射時のスポットの位置）

## 【結果】

⑤で採集した珪藻に含まれていた内の2つ、エチル9-ヘキサデセン、ヘキサデカン酸エチルエステルは、③で採集された珪藻でも検出された。(エチル9-ヘキサデセンは橙色で、ヘキサデカン酸エチルエステルは緑色で図中に囲んである。)しかし、重金属を含まない鮎喰側上流で採集した珪藻では検出されなかった。よって、この2種類の有機物は広石谷川に生息する珪藻に特異的に発現するものだと考えられる。また、TLCを行った際にも共通のスポットが見られ(図6の一番上のスポット)、これらの有機物がスポットを形成することがわかった。

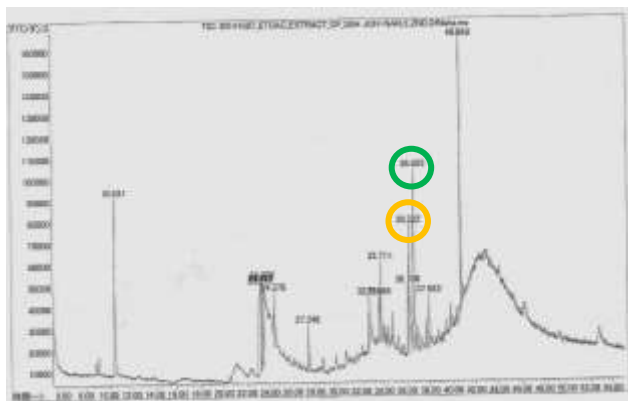


図6 ⑤で採集した珪藻のクロマトグラム

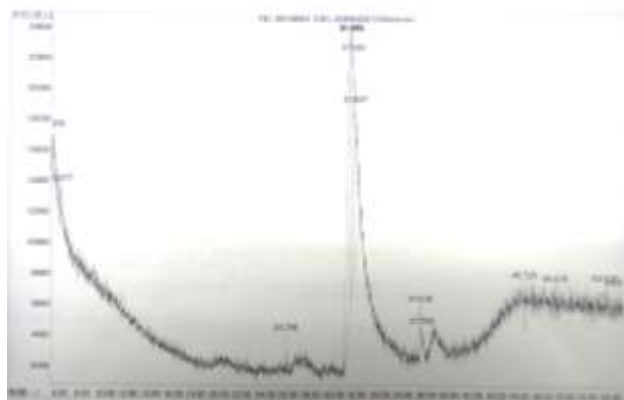


図7 鮎喰川で採取した珪藻のクロマトグラム

⑤で採集したハネヒツジゴケのクロマトグラム珪藻の他にも計13個のサンプルを分析した。しかし抽出液の濃度が低すぎたため、図のように大きなピークは見られなかった。③で採集した珪藻のクロマトグラム一番左側のピークが600,000であるのに対し、⑤で採集したハネヒツジゴケのクロマトグラムでは65,000であることから抽出液が薄かったことがわかる。⑤

で採集したハネヒツジゴケではかろうじて4つのピークが見られたが、成分比率が低く、一致率が低いので、信頼のあるデータとはいえない。GC/MSではめぼしい有機物が見られなかったが、TLCではすべてのサンプルの抽出液でスポットが見られた。

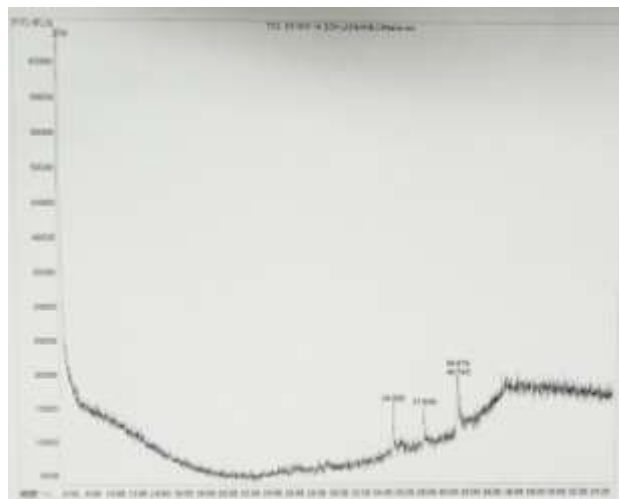


図8 ⑤で採集したハネヒツジゴケのクロマトグラム

鮎喰川上流、③、⑤で採集した珪藻をICP-MSで分析したところ、Mn含有量は採集箇所に関係していなかった。しかし、Cu、Znは、重金属が流入していない鮎喰川上流で80ppm以下と少ないのに対し、広石谷川の上流に行くにつれ著しく増加した。国立環境研究所の配布するクロレラ標準資料では、Cuが3.5ppm、Znが20.5ppmであることから、③、⑤の珪藻が保有するCu、Znの量は、同じ藻類で比べても非常に多いことがわかる。

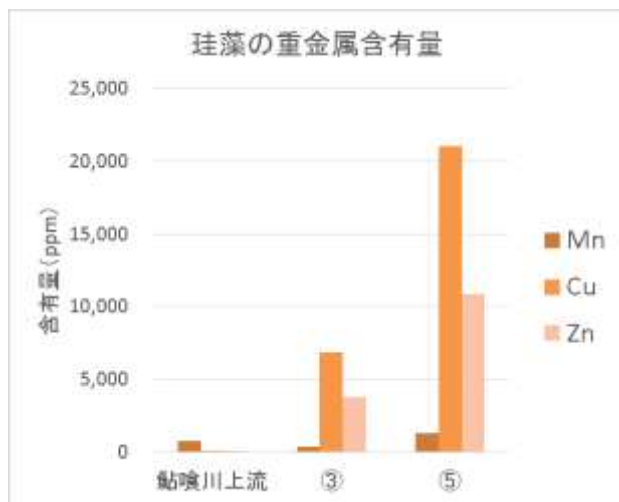


図9 珪藻の重金属含有量

鮎喰川上流、③、⑤で採集した珪藻を ICP-MS で分析したところ、Mn 含有量は採集箇所に関係していなかった。しかし、Cu、Zn は、重金属が流入していない鮎喰川上流で 80ppm 以下と少ないのに対し、広石谷川の上流に行くにつれ著しく増加した。国立環境研究所の配布するクロレラ標準資料では、Cu が 3.5ppm、Zn が 20.5ppm であることから、③、⑤の珪藻が保有する Cu、Zn の量は、同じ藻類で比べても非常に多いことがわかる。



図 10 ハネヒツジゴケの重金属含有量

③、④、⑤、⑥で採集したハネヒツジゴケを ICP-MS で分析したところ、Cu、Zn については、河川中の重金属濃度の高い⑤、⑥に生息していたものの方が含有量は少なかった。Mn は③で多かったが、その他では大きな変化はなかった。

#### 【考察】

珪藻について

重金属濃度の高いところのものほど Cu、Zn の含有量が多かったため、珪藻は Cu、Zn を体内に取り込んでいると考えられる。それに比べ、Mn の含有量は重金属濃度に関係していないため、体内に取り込まずに排出していると考えられる。また、③と⑤で採集した珪藻は、エチル 9-ヘキサデセン、ヘキサデカン酸エチルエステルを共通して持っていた。メタロチオネインという有機物は、体内に入った重金属の毒性を軽減するといわれている。同様に、これらの有機物が Cu、Zn を無毒化している可能性がある。

または、Cu、Zn を比較的体に影響の出にくい液胞や細胞壁に運んだり、Mn を排出したりする輸送タンパク質として働いているとも予測できる。

ハネヒツジゴケについて

Cu、Zn の含有量は、重金属濃度の高いところに生息していたものの方が少なかった。よって、ハネヒツジゴケは Cu、Zn を体外へ排出していると考えられる。さらに、重金属濃度が高いところほどその能力が高いものだけが生き残るようになり、高濃度のところに生息している個体の Cu、Zn の含有量が減少したのではないかと考えられる。

今回の研究では、広石谷川で採集した珪藻が、非常に多くの Cu と Zn を溜め込むことがわかった。この重金属耐性の仕組みを利用すれば、植物で河川や排水に含まれる Cu や Zn を取り除くことができるようになる。これには、化学物質を使わずに植物の力で浄化するので、生態系を崩さずに済むという利点がある。日陰の植物だった藻類やコケ類が脚光を浴びる日が来るかもしれない。

#### 【参考文献】

「コケの手帳」秋山弘之、伊村智、上野健、畦浩二、西村直樹、福田恵、本郷順子、南佳典、山口富美夫 著 秋山弘之 編  
「フィールド図鑑 コケ」井上浩 解説・写真