

キノコ菌糸中のセシウムをNMRで見る

綿貫 知彦*, 古茂田 恵美子*, 仁科 正実**, 松下 和弘**

(平成13年10月4日受理)

Cesium by Mycelium of the Mushroom as Measured by Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer

Tomohiko WATANUKI, Emiko KOMODA, Masami NISINA
and Kazuhiro MATSUSHITA

(Received on October 4, 2001)

キーワード：キノコ，セシウム，核磁気共鳴分光法，ヒラタケ，ウスヒラタケ

Key words : Mushroom, Sesium, NMR, *Pleurotus ostreatus*, *P. pulmonarius*

1. はじめに

キノコ中の放射性セシウムが注目され始めたのは1986年に発生した旧ソ連のチェルノブイリ原子力発電所事故以後である。例えば、オーストリアの7種類のキノコの放射性セシウムは事故後では事故前の3.0-4.8倍であった¹⁾。

事故後には植物での放射性Cs濃度が減少が見られたのと対照的に、キノコは事故後も2-3年間は濃度が上昇し続けた。このように、事故後もキノコにおける高濃度の放射性セシウムが観測され続けていることなどから、キノコ中の放射性セシウムは大気中から直接沈着したのではなく、土壌中に蓄積している放射性セシウムがキノコに濃縮されると考えられている。また、現在でもキノコ中の放射性セシウム濃度は周辺の植物よりも高く、他の放射性核種に比べて放射性セシウムはキノコに濃縮されやすいことが指摘されている^{2)~6)}。

そこで、我々はキノコがどうしてセシウムを高濃縮するかを目的にしてセシウム添加培地で培養したキノコの菌糸を用いて実験を行っているが、ここではNMR(核磁気共鳴分光法)でキノコ菌糸中セシウムを測定する場合の条件について検討したので報告する。

2. なぜNMRを利用するか

通常、キノコ中の放射性セシウムの定量には、G半導

体検出器を用いたγ線スペクトロメトリーによる測定法が感度の良い方法である。また、安定セシウムは放射化分析、ICP-MSによる分析が適用できる。しかし、NMRは生体を破壊せず生きたままの状態でキノコにおけるセシウムの存在に関する情報を得られることは、これまでの定量分析では得られない知見が得られる可能性が高く魅力的である⁷⁾。

これらの理由により本実験のNMR測定では、非放射性の安定元素の¹³³Csを用いた。また、¹³³Csは放射性セシウムと化学的挙動が同じと考えられ、被爆の恐れがなく、取り扱い易いこともこの測定法の長所である。

3. 実験方法

3.1. 実験材料

ヒラタケ(*Pleurotus ostreatus*)は桑原ら⁷⁾が用いた培養株をウスヒラタケ(*P. pulmonarius*)は1997年7月26日、北海道上川郡上川町で採集され東京家政大学で分離・培養された株を用いた。ヒラタケはYMG培地(酵母エキス4g, 麦芽エキス10g, グルコース4g/L), ウスヒラタケは麦芽培地(麦芽エキス30g/L)を使用し、¹³³Csを塩化セシウムとして実験条件に応じて添加し、菌糸を接種後、25℃で振とう培養した。

3.2. NMRの測定方法

培養開始後5日間に液体培地中に増殖した菌糸を遠心器で捕集した。捕集した菌糸および濾液を径10mmの試料管に充填し、NMR測定用試料とし、JOEL EX400 FT-NMRスペクトロメーターを使用し、¹³³Csの共鳴周波数52.44 MHzで測定した。

* 栄養学科 微生物学研究室

** 埼玉医科大学 医動物学教室

4. 実験結果

4.1 NMRによるセシウム定量の検討

試料管に安定セシウム (^{133}Cs) 標準液, 1.0 mM, 2.5 mM, 5.0 mM, 7.5 mM および 10 mM を入れ測定した. セシウム濃度とその信号強度には有意な相関関係が見られ, NMR がセシウムの定量に利用できることが確認された. この測定条件での検出下限は 0.1 mM であった⁷⁾.

4.2 セシウム定量における基準物質の検討

セシウムを NMR で測定する場合, スペクトルの目盛り付けと定量のために必要な基準物質が知られていなかったが, 細胞内外のナトリウムピークを分離測定するために利用されていた化学シフト剤 (常磁性金属錯体) ジスポロシウム錯体 ($\text{Dy}(\text{pppi})_2^{7-}$) の利用を検討した^{9)~11)}. NMR 試料管中に 10 mM 塩化セシウム (CsCl) 標準液を入れ測定し, そのときのセシウムのシグナルの化学シフト値を 0 ppm に設定した. さらに, この試料管に 100 mM MCsCl , および 50 mM $\text{Dy}(\text{pppi})_2^{7-}$ を一定量加えたキャピラリーチューブを入れ, 再度測定した. キャピラリー中のセシウムピークは, $\text{Dy}(\text{pppi})_2^{7-}$ により低磁場側 (15 ppm 付近) にシフトし, 10 mM CsCl 標準液のピークと分離することができた. 以後, 100 mM CsCl ,

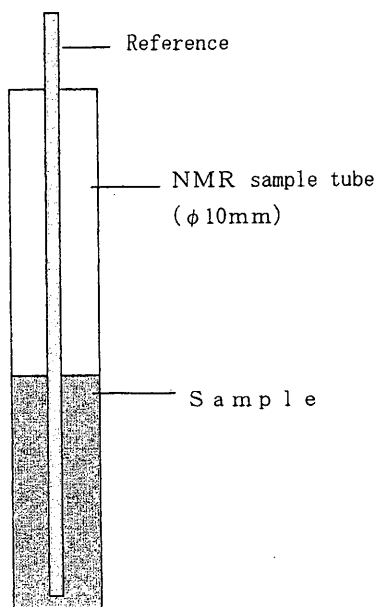


Fig.1 Method of measurement

JEOL EX400FT-NMR spectrometer
Cs-133 of resonance frequency at 52.44MHz

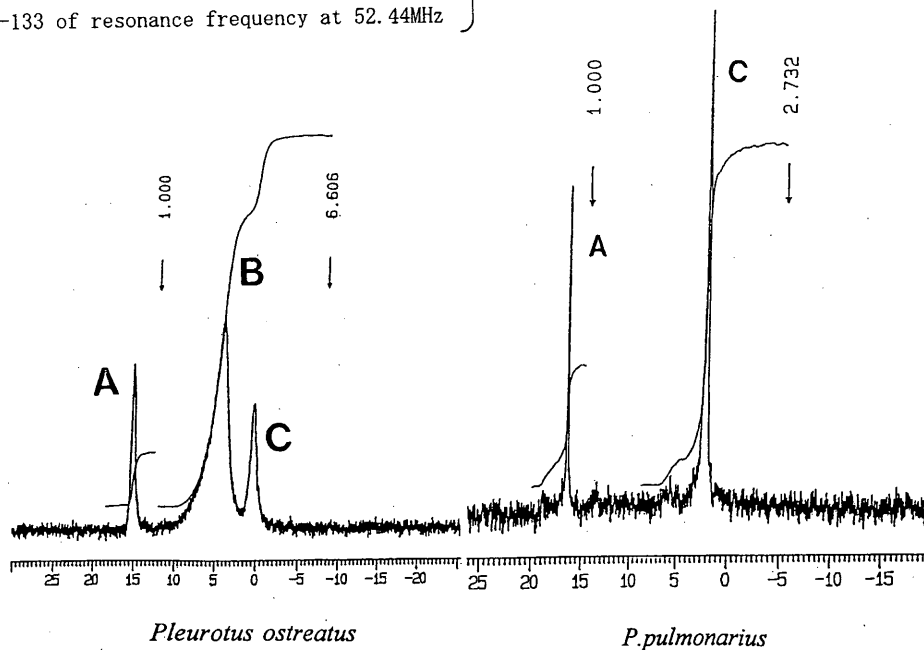


Fig.2 ^{133}Cs -NMR spectra *Pleurotus ostreatus* and *P. pulmonarius*
A: Reference, B: non-ionized cesium, C: ionized cesium

と50mM $\text{Dy}(\text{pppi})_2^{7-}$ を加えたキャピラリーを外部基準とした。

4. 3 菌糸におけるセシウムの存在形態

図-2には培地中に10mMの塩化セシウムを添加し5日間培養したヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) とウスヒラタケ (*P. pulmonarius*) における菌糸中のセシウムを133Cs-NMRで測定した事例を示した。ヒラタケ菌糸では図-2のAはreferenceである塩化セシウム標準液のシグナル、Aよりも幅の広い2本のシグナルBおよびCが菌糸に由来するものである。BのスペクトルはCに比べてスペクトルの幅が広く、即ち分子運動の活動が低いことを意味し菌糸中における細胞器内の物質等と結合していると思われるセシウムであり、Cのスペクトルは遊離したセシウムイオンであると推定された。この結果よりヒラタケ菌糸には少なくとも2種類以上のセシウムの存在形態があることがわかった。

これに対してウスヒラタケ菌糸ではヒラタケ菌糸にみられたBのスペクトル、即ち、結合型のセシウムのスペクトルが観察されれずにCのスペクトル、遊離イオン状態のスペクトルのみが観察された。同属の菌株であるにもかかわらず両者に差異が観察されたが、その原因については現在のところ不明である。

5. まとめ

チェルノブイリ原子力発電所事故以後、キノコ類に放射性セシウムが高濃度に存在することに関心が高まったが、その濃縮機構などは未だに不明である。我々はセシウムのキノコ類における蓄積性を知るために次のような実験を実施した。

NMRでヒラタケ属のヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) および (*P. pulmonarius*) 菌糸中におけるセシウムの存在形態を観察したところ、ヒラタケでは結合型と遊離型の2種類のセシウムが観察された。また、ウスヒラタケでは遊離型のセシウムイオンと考えられるスペクトルのみが得られた。

本研究により、各種キノコにおけるセシウムの存在形態、蓄積性および移行についての実験が可能となると考えられる。

6. 謝 辞

本論文を作成するにあたり、桑原千雅子主任研究員(神奈川県衛生研究所) および加藤賢三博士(前感染症研究所) に各種の援助をいただいた深謝いたします。また、本研究の一部は東京家政大学共同研究推進費によって実施された。

参考文献

- 1) Teherani, D.K.: Accumulation of ^{103}Ru , ^{137}Cs and ^{134}Cs in fruitbodies of various mushrooms from Austria after the Chernobyl incident, J. Radioanal. Nucl. Chem., 117, 69-74 (1984)
- 2) Mascanzoni, D.: Chernobyl challenge to the environment: A report from Sweden, Sci., Total Environ., 67, 133-148 (1987)
- 3) 杉山英男, 岩島 清, 柴田 尚: キノコ類および、その生息基質中における放射性セシウムの分布, RADIOISOTOPES, 39, 499-502. (1990)
- 4) 坂内忠明, 吉田聡, 村松康行: キノコへの放射性核種の移行に関する培養実験, RADIOISOTOPES,
- 5) 吉田聡, 村松康行: 菌類と地球環境: 地球規模の放射能汚染と菌類, 日菌報, 37:25-30, (1996)
- 6) 杉山英男, 寺田 宙, 磯村公郎: キノコへの放射性セシウムの移行特性—野生キノコおよび培養キノコ—, RADIOISOTOPES, 42, 683-690, (1993)
- 7) Kuwahara, C., Watanuki, T., Matsusita, K., Nishina M., and Sugiyama, H., :Studies on uptake of cesium by mycelium of the mushroom (*Pleurotus ostreatus*) by ^{133}Cs -NMR, Nucl., Chem., 235, 1-2, 191-194 (1998)
- 8) 綿貫知彦: 核磁気共鳴分光法を用いて生物を測る。神奈川県衛生研究所報告, 28,1-15, (1998)
- 9) Degani, H. and Elgavish, G. A.: Ion permeability of membranes ^{23}Na and ^7Li NMR studies of ion transport across membrane of phosphatidyl choline vesicles, FEBS Lett., 90,357-358, 1978.
- 10) Gupta, R.K. and Gupta, P.: Direct observation of resolved resonances from intra- and extracellular ^{23}Na ions in NMR studies of intact cells and tissues using dysprosium (III) triphosphate as paramagnetic shift reagent, J. Magn.

Reson., 47, 344-348, 1982.

- 11) Chu, S.C., Pike, M.M., Fossel, E.T., Smit, T. W., Balsci, J.A., and Springer, C.S.: Aqueous shift reagents for high-resolution cationic NMR. III. Dy (TTHA)³⁻, Tm (TTHA)³⁻, and Tm (PPPi)₂⁷⁻, J. Magn. Reson., 6, 33-36, (1984)

Abstract

High concentrations of radiocesium were reported in the fruiting bodies of various species of mushrooms of the Chernobyl accident. Sufficient information on the mechanisms of radiocesium translation from substrate to mushroom and accumulation is still not available.

We studied the existing state of cesium in the cultured mycelium of mushroom (*Pleurotus ostreatus* and *P.pulmonarius*) using NMR. The resulting spectra of the *Pleurotus ostreatus* exhibited two resonance (broad and narrow) spectra arising from the mycelium whereas one resonance spectrum from the external medium and CsCl standard solution. The broad spectrum was non-ionized cesium and the narrow spectrum was ionized cesium. The spectra of the *P.pulmonarius* exhibited one resonance narrow signal. We may conclude at this point that the meaning of these are also not clear. Further study is needed for elucidation of free and bound type cesium in the culture mycelium of the mushroom.