

砒素を溶出する泥岩のモエジマシダによるファイトレメディエーションに関するポット実験

Greenhouse pot experiment of phytoremediation of mudstone leaching arsenic by *Pteris vittata* L.

渡邊 彩¹ 榊原正幸¹
佐野 栄² 近藤敏仁³
井上雅裕¹ 堀 利栄¹
鈴木哲也⁴ 竹花大介⁵

Aya Watanabe¹, Masayuki Sakakibara¹, Sakae Sano², Toshihito Kondo³, Masahiro Inoue¹, Rie S. Hori¹, Tetsuya Suzuki⁴ and Daisuke Takehana⁵

¹愛媛大学理学部生物地球圏科学科

Department of Biology and Earth Science, Faculty of Science, Ehime University, 2-5 Bunkyo-cho, Matsuyama 790-8577, Japan

²愛媛大学教育学部地学

Earth Science Laboratory, Faculty of Education, Ehime University, 3 Bunkyo-cho, Matsuyama 790-8577, Japan

³(株)フジタ 技術センター 環境研究部

Environmental Research Dept., Technology Development Division, Fujita Co. Ltd., 2025-1 Ono, Atsugi 243-0125, Japan

⁴住友金属鉱山(株) 資源事業部

Sumitomo Metal Mining Co.Ltd., 5-11-3 Shinbashi, Minato-ku, Tokyo 105-8716, Japan

⁵住鉱コンサルタント(株) 札幌支店

Sumiko Consultant Co. Ltd., 22-2-3 Kita 6 jyo Nishi, Chuo-ku, Sapporo 060-0006, Japan

はじめに

土木工事の際に、環境基準を超える砒素を溶出する泥岩が掘削土砂として発生するとき、その処分場および方法ならびにコストが大きな問題となっている(たとえば、鈴木ほか, 2004)。一般に、泥岩の砒素濃度は10~100 ppmであるが、溶出試験において環境基準を超える砒素が検出される事例が増えている。これらの土砂を廃棄物として処分する場合、莫大な土地とコストを必要とする。また、土砂

Abstract

Phytoremediation is the use of plants for the in situ cleanup of contaminated soils, sediments, and ground water. Pot-scale experiment evaluated phytoremediation by *Pteris vittata* L. (Chinese brake fern) for mudstone containing arsenic (12.3 mg/kg-DW) of the Hakobuchi Group in the Yubari City, central Hokkaido, Japan. In this experiment, fronds of *Pteris vittata* L. were taken after 18 weeks growth in soil.

The following properties became clear after examining the experimental results.

(1) The brake fern can growth in the soil made from mudstone containing arsenic.

(2) The highest arsenic concentrations in the frond of *Pteris vittata* L. growing in the soil are about 3000 mg/kg-DW.

(3) The fern removed arsenic about 10 % from mudstone.

The results suggested that the brake fern has a great potential to be used for phytoremediating soils with low concentration of arsenic.

Key words: greenhouse, pot experiment, phytoremediation, *Pteris vittata* L., arsenic, mudstone, Hokkaido, Hakobuchi Group

を処理する過程で環境が汚染する場合もあり、その処分が大きな問題となっている。そこで、コスト・処分場の節約および周辺環境に対するリスクの軽減という点で、ファイトレメディエーションによって浄化する技術の実用化が極めて重要である。

ファイトレメディエーションとは、水分や養分を吸収する植物の性質・能力を利用して、汚染された土壌や水などの環境を浄化する技術である。ファイトレメディエーションに活用される植物の機能は、①植物の根から有害物質を吸収し、植物体内への蓄積・濃縮 (Phytoextraction, Rhizofiltration)、②植物体内での分解・無害化 (Phytotransformation)、③大気汚染物質の取り込みもしくは吸収した

有害物質の蒸散 (Phytovolatilization), ④根圏への酵素などの放出による有害物質の分解・無害化 (Phyotransformation), ⑤有害物質の土壌への固定 (Phytostabilization), ⑥根圏微生物の活性化による有害物質の分解・無害化 (Phyostimulation) の6つに分けられる (吉原ほか, 2000)。この技術は他の環境浄化技術と比較して, ①低コスト, ②エネルギー消費0, ③環境調和型の技術, という特徴を有している (吉原ほか, 2000; 近藤・阪本, 2003)。これに対して, ファイトレメディエーションの短所は, ①対象物質が限られている, ②適用範囲 (土壌の深さ) は地表から数10 cm~数10 mの間に限られる, ③植物の生育に時間を要すること, などである。それゆえ, ファイトレメディエーションは, ある有害物質による環境汚染が広範囲に及ぶ場合, あるいはそれらが比較的低濃度で存在する場合, 特別なメンテナンスを行わずに長期間にわたり効果を存続させたい場合に極めて有効な手法であると考えられている (吉原ほか, 2000)。

本研究では北海道夕張市シューパロ川周辺の函淵層群の泥岩を対象として, モエジマシダ (イノモトソウ科イノモトソウ属, *Pteris vittata* L.) によってファイトレメディエーション実験を行った。モエジマシダは, Ma et al. (2001) によって, 砒素の超集積植物 (ハイパーアキュミュレーター) として発見された。モエジマシダはアジアや米国など世界各地に分布しており, 日本では鹿児島県, 大分県, 和歌山県および愛媛県などに自生している。したがって, モエジマシダをファイトレメディエーションに実用化しても周辺の生態系に与える影響はほとんどないと考えられる。

自然由来の砒素を含む土壌のモエジマシダによるファイトレメディエーションに関しては, 榊原ほか (2003) の基礎的実験が初めての試みである。榊原ほか (2003) の実験結果に基づいて, 本論文の目的は, ①モエジマシダが, 基準を超える砒素を溶出する泥岩を粉砕して作成した土壌において生育可能であるかどうかを明らかにすること, ②モエジマシダが総砒素濃度の低い泥岩の土壌において, 砒素を効率的に吸収・蓄積し, ファイトレメディエーション技術が応用可能であるかどうかを明らかにすること, である。なお, 本論文のデータの一部は, 渡邊

ほか (2004) によって既に報告されている。

実験方法

1. 栽培実験の方法および手順

モエジマシダの栽培に使用する土壌は, 北海道夕張市シューパロ川周辺の函淵層群の泥岩を使用した。泥岩はジョークラッシャーで細かく (粒径1 cm~3.5 mm程度) 粉砕した。

ポットは厚さ1.5 mmの亚克力板およびポット用受け皿で作成した。受け皿には直径8 mmの穴を開け, 余分な水分が下から流れ出るようにした。ポットの直径は16.5 cm, 高さは50 cmである。ポットの底にはナイロンメッシュ (メッシュ径3 mm) を入れ, 細い泥岩の破片が流出しないようにした。また, ポットの下には受け皿を置いた。

モエジマシダは孢子から培養した。エッペントチューブに孢子, 70%エタノールを入れ, 約1分間遠心分離機にかけ殺菌した。上澄みを捨てた後, 滅菌水を入れ, 再び遠心分離機にかけた。その後, 霧吹きに孢子, 滅菌水を入れてよく振り, 土壌に散布した。土壌は滅菌したJIFFY-MIXを使用した。そして, 約5ヵ月間かけて生育した後, 泥岩を粉砕して作成した土壌に1株移植した。

粉砕した泥岩を均質になるようによく混ぜ, 上記のポットに入れた。ポット中の泥岩の重量は約13.7 kgであった。モエジマシダには, 肥料として1/5,000ハイポネックスを週に2回与えた。水は1日1~2回与え, 受け皿にたまった水は再度ポットに戻した。

実験は愛媛大学理学部総合研究棟の屋上にある温室内で平成16年6月から10月にかけて行った。夏の期間は温室の窓を適宜開放し, 温度管理は行わなかった。実験開始から128日目にモエジマシダの地上部をすべて刈り取った。刈り取ったシダは全部で40本近くあったが, そのうち枯れておらず, 中軸の長さが約20 cm以上の葉26本を分析試料とした。葉の世代および長さとの砒素濃度の関係を検討するため, モエジマシダの葉を古い世代・中程度の世代・若い世代・ゼンマイに区分して, 中軸の長さを測定した。採取したモエジマシダはエアバス (80℃) で24時間乾燥し, 乳鉢で粉末にした。

土壌はポットを分解した後, 表面から10 cmごと



Fig.1. Photographs and sketch of fronds and roots of *Pteris vittata* L. at the start and end of the experiment.

a. fronds of *Pteris vittata* L. at the start, b. roots of *Pteris vittata* L. at the start of the experiment, c. fronds of *Pteris vittata* L. at the end of the experiment, d. Roots of *Pteris vittata* L. at the end of the experiment, e. sketch of roots of *Pteris vittata* L. at the end of the experiment.

に切り、表層から1層(0~10 cm)・2層(10~20 cm)・3層(20~30 cm)・4層(30~40 cm)とした。さらに、それぞれの層を8等分に分割し、根を取り除いた後エアバス(70℃)で2日間乾燥した。その後、泥岩をめもの乳鉢で粉末にした。粉末にした泥岩をよく混ぜた後、四分法で粉末にした泥岩を分け、分析試料とした。

2. モエジマシダおよび土壌中の砒素濃度の分析方法

モエジマシダの葉の総砒素濃度は、愛媛大学総合研究支援センターに設置している誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS; ELAN6000)および京大原子炉実験所における放射化分析によって行った。それらの詳細な定量方法および分析確度は本特集号

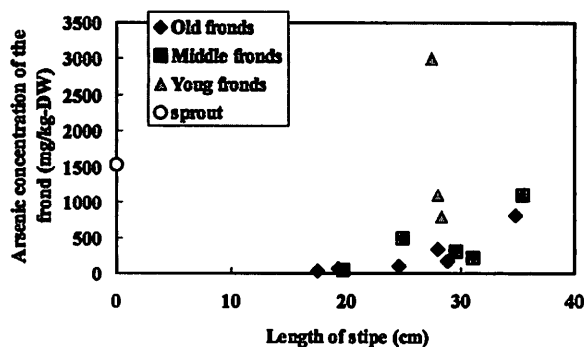


Fig. 2. Relationship between length of stipe and arsenic concentration of the frond of *Pteris vittata* L.

の佐野ほか (2005) を参照されたい。以下にその手順を簡潔にまとめる。

ICP-MSでは、試料20 mgに61%硝酸4 mLを加えて120℃で加熱し、乾固した。その後3%硝酸を2 mL加えた。分析前に試料を20 mLポリエチレンボトルに移し、3%硝酸で希釈した。放射化分析では、試料20 mgをポリエチレン袋に入れて二重にして封入し、中性子照射用試料とした。試料は、京都大学原子炉実験所で50分間中性子を照射した後、1週間後に解析を行った。分析値の単位はモエジマシダおよび土壌とも乾燥重量中の濃度 (mg/kg-DW) で表わした。

分析精度・精度の検定は国立環境研究所で調整したNIES No.1リヨウブ (pepperbush) (保証値=2.3±0.3 mg/kg-DW) を用いて行った。その結果、ICP-MSおよび放射化分析でそれぞれ2.226±0.007 mg/kg-DW (n=2) および2.21±0.04 mg/kg-DW (n=3) という良好な結果が得られた。

岩石・土壌の化学分析は、愛媛大学理学部に設置している蛍光X線分析装置 (Phillips PW 2400) を用いて行った。岩石・土壌試料は粉末圧縮ペレットを作成して分析を行った。作成手順は、粉末試料約3.2 gとポリビニール・アルコール溶液 (4 g/超純水1,000 mL) 約0.4 mLを混合する。これを塩化ビニール製リング (内径3 cm) に充填し、タングステンカーバイドホルダーで挟み、750 kgf/cm²で1分間圧縮する。その後、高温槽 (約40℃) で5時間以上乾燥させ、水分を除去した (樋口・堀, 1996)。

実験結果

1. モエジマシダの生育状況

Figure 1は実験開始時および実験終了直前のモエジマシダの地上部および毛根の写真である。モエジマシダは、実験開始時に体高10 cm程度であったが、4ヵ月後の刈り取り直前には30 cm以上に及んだ。また、実験開始時に10本程度であった葉の数は、実験終了時には約40本にまで増加した。実験途中の8~9月頃、温室の温度が高く、湿度管理がうまくコントロールできず、数本の葉が枯れたが、その後は順調に成長している。

今回の実験では、栽培終了後のモエジマシダの根についても、その生育状況を詳細に観察した。根の到達深度は、実験開始時に7 cm程度であったものが、終了時には最長で32 cmに達していた (Fig. 1)。ただし、それらの大部分は深さ20 cm以下であった。また、多くの根は細い毛根状で、モエジマシダ全体のバイオマス総重量に占める毛根の割合は小さい。

刈り取ったモエジマシダ一株の葉の乾燥重量は約12.7 g、根の乾燥重量は2.3 gであった。

2. モエジマシダの砒素濃度

モエジマシダの葉の総砒素濃度は、最も高いもので3,000 mg/kg-DW、最も低いものは26.6 mg/kg-DWと極めて大きな砒素濃度範囲を示す (Fig. 2)。Figure 2によれば、モエジマシダの各葉の総砒素濃度は全体に極めて幅広いが、それは世代が若いほど高い傾向が認められる。各世代の葉の中軸の長さとも総砒素濃度の関係を見ると、最も砒素濃度の高い1点を除けば、全体として正の相関を示す。また、今回、1試料のみ分析したゼンマイは他の成長した葉と比較して、1,532 mg/kg-DWと非常に高い濃度を示した (Fig. 2)。

以上のデータに基づくと、モエジマシダの葉の総砒素濃度は、ゼンマイおよび一部の葉を除けば、全体に葉の中軸が長くなるにつれて高くなるという傾向を示す。また、世代間で比較すると、より若いほど総砒素濃度が高くなる。

3. 泥岩土壌の砒素濃度

モエジマシダの栽培に使用した泥岩の総砒素濃度をFigure 5に示す。実験後の泥岩の総砒素濃度は実験前のそれ (12.3 mg/kg-DW) と比較すると、すべての深さで減少していた (Fig. 3)。最も砒素濃度

が減少した土壌は、表層の1層（砒素濃度；9.9～10.0 mg/kg-DW）であった。さらに、深さが増すにつれて、2層（砒素濃度；10.0～10.7 mg/kg-DW）、3層（砒素濃度；10.5～11.1 mg/kg-DW）および4層（砒素濃度；11.1～11.9 mg/kg-DW）の順にその減少量は低下している（Fig. 3）。また、今回の実験によって、泥岩土壌から除去された総砒素量は、含有量全体の約15%である。

考 察

1. 泥岩土壌におけるモエジマシダの生育と土壌浄化

モエジマシダによるファイトレメディエーションに関して、その重要な要因はその生育過程およびバイオマスである。一般に、モエジマシダに吸収された砒素の95%以上は葉の部分に蓄積される（榊原ほか，2004）。したがって、地上部のバイオマスを増大させることが極めて重要であるが、そのためには、地下の根茎をより深く、高密度に成長させる必要がある。今回の実験で、モエジマシダの地上部の成長が順調であった理由として、栽培期間が春～夏でかつ温室栽培を行ったため、温室内の環境がモエジマシダの生育に適したことによると考えられる。また、今回の実験で、モエジマシダは、砒素濃度の低い土壌（12.3 mg/kg-DW）からでも自然由来の砒素を効率的に吸収・蓄積可能であることが明らかになった。

前述のように、モエジマシダの根の到達深度は、最長でも32 cmであった（Fig. 1）が、4層（深さ30

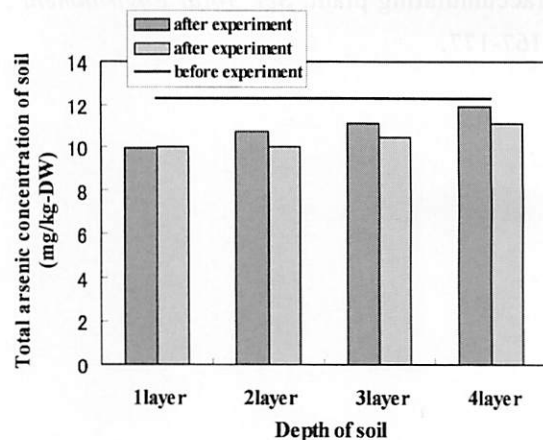


Fig. 3. Relationship between length of stipe and arsenic concentration of the frond of *Pteris vittata* L.

～40 cm)の土壌では総砒素量がほとんど減少していなかった（Fig. 3）。このことは、モエジマシダによるファイトレメディエーションによって砒素を除去できる範囲がほぼ根の及ぶ範囲であり、かつモエジマシダによる4ヶ月程度の短期間のファイトレメディエーションでは、その有効な浄化深度は約30 cm程度であることを示唆している。

また、今回の実験で、モエジマシダによって土壌から除去された総砒素量と根の密度はほぼ正の相関があることが明らかになった。

2. モエジマシダの成長過程における砒素吸収・蓄積時期

従来、モエジマシダの葉の砒素濃度は葉の世代に影響され、葉が古いほど砒素濃度が高いことが報告されている（Tu et al., 2002；Zhang et al., 2002）。しかしながら、本実験では、葉によってばらつきがあるものの、全体的に葉が若いほど砒素を吸収している。この矛盾した結果の原因は現在のところ合理的に説明できないが、以下の2点が考えられる；

①8～9月の高気温の温室環境で、モエジマシダが環境応答として水分の蒸散とともに砒素を体外に放出した、

②モエジマシダは、成長の比較的初期の段階で多量の砒素を吸収・蓄積し、その後は砒素吸収よりもバイオマスの増加が勝ることによって葉中の砒素濃度が低下した。

また、原因は不明であるが、モエジマシダの葉の総砒素濃度は、最も高いもので3,000 mg/kg-DW、最も低いもので26.6 mg/kg-DWと極めて幅広い範囲を示す。以上の結果を踏まえると、短期間で効率よくファイトレメディエーションを行う際に、もし選択的に砒素濃度の高い葉を刈り、新たな葉を成長させることが可能になれば、従来よりも効率的に土壌浄化が行うことが可能になるであろう。

結 論

本研究は、溶出試験によって環境基準を超える砒素が検出される泥岩地域を開発する際に、発生した泥岩の土砂の浄化にファイトレメディエーション技術を実用化するための基礎的な実験である。今回の実験によって、モエジマシダは環境基準を超える

砒素を溶出する泥岩で作成した土壌でも十分に栽培可能であることが明らかになった。さらに、土壌の砒素濃度が低い場合でも、栽培期間がわずか4ヶ月という短期間で、モエジマシダは十分に砒素を吸収・蓄積することが証明された。このことは、東北日本や北海道のような寒冷地においても春～秋にかけての短期間ならば、南方系の植物であるモエジマシダを用いたファイトレメディエーションによる環境浄化が可能であることを示している。

また、多量に砒素を蓄積した古い世代の葉を刈り取り、新しい葉を成長させることによって、モエジマシダのファイトレメディエーションによる砒素浄化をより効率的に行うことが可能であると考えられる。

謝 辞

また、本研究で使用したモエジマシダは、三重大学・水野隆文博士に株分けしていただいた。放射化分析において、試料の中性子照射および解析は京都大学原子炉実験所の中野幸廣氏にご協力いただいた。モエジマシダの栽培・管理に関しては、中村千伶女史にお世話になった。上記の方々に記して謝意を表す。本研究の研究費の一部は、平成16年度愛媛大学研究開発支援経費（特別推進研究）が使用された。また、放射化分析の際には、京都大学原子炉実験所共同利用プログラムを利用した。

文 献

- 樋口 靖・堀 利栄, 1996, 蛍光X線による微量成分分析のための珪質岩石試料の調整. 愛媛大学理学部紀要, 2, 1-14.
- 近藤敏仁・阪本廣行, 2003, ファイトレメディエーション, 土木技術, 58, 90-95.
- Ma, L. Q., Komer, K. M. M., Tu, C., Zhang, W., Cai, Y. and Kenelley, E.D., 2001, A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature*, 409, 579.
- 榊原正幸・高木 梢・井上雅裕・久保田領志・堀 利栄・佐野 栄, 2003, 環境岩石学によるファイトレメディエーション技術の実用化への展開—砒素に富む安山岩地域の開発を例として—. 第13

回環境地質シンポジウム論文集, 205-210.

榊原正幸・高木 梢・井上雅裕・久保田領志・堀 利栄・佐野 栄, 2004, 硫砒鉄鉱を含む変質安山岩のモエジマシダによるファイトレメディエーションに関する基礎的実験. 第14回環境地質シンポジウム論文集, 11-20.

佐野 栄・榊原正幸・渡邊 彩, 2005, 放射化分析法および誘導結合プラズマ質量分析法による植物中の総ヒ素濃度の定量分析—モエジマシダによるファイトレメディエーション技術への適用—. 愛媛大学理学部紀要, 11, 1-6.

鈴木哲也・竹花大介・榊原正幸・板谷利久, 2004, 重金属を含有する掘削土砂の処理判定と対策. 地盤工学会誌, 52, 13-15.

Tu, C., Ma, L. Q. and Bondada, B., 2002, Arsenic accumulation in the hyperaccumulator chinese brake fern and its utilization potential for phytoremediation. *J. Environ. Qual.*, 31, 1671-1675.

渡邊 彩・榊原正幸・佐野 栄・近藤敏仁・井上雅裕・堀 利栄・鈴木哲也・竹花大介, 2004, モエジマシダによる砒素を溶出する泥岩のファイトレメディエーション, 第14回環境地質シンポジウム論文集, 255-258.

吉原利一・後藤文之・増田太郎, 2000, 植物による環境修復(1)—現状と遺伝子工学の適用に関する調査—. 電力中央研究所報告 調査報告, U00022, 1-36.

Zhang, W., Cai, Y., Chen, Z., Downum, K., and Ma, L. Q., 2002, Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *Sci. Total Environment*, 300, 167-177.