

令和元年6月17日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H04568

研究課題名(和文) 重金属汚染農地における有機物を利用した安全な作物生産管理に関する研究

研究課題名(英文) Study on secure crop production using organic matter amendments in farmland polluted by heavy metals

研究代表者

堀野 治彦 (HORINO, Haruhiko)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：30212202

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,100,000円

研究成果の概要(和文)：広範かつ恒常的な重金属汚染農地では、時間的・コスト的側面から浄化が難しく、土壌改良材を使った重金属の作物への移行抑制技術が注目されている。本研究では、Cu、Cd、Pbを添加とした土壌バッチ実験から牛ふん、鶏ふんおよび稲わらの重金属不動態化効果を検討した。その結果、投与資材の中で牛ふんの重金属の不動態化効果が最も高いこと、同一の資材なら腐熟度が進むにつれて不動態化効果が増大することが示された。しかし、Cdは不動態化されにくいことも確認された。ただし、コマツナのポット試験から、土壌水分を比較的小さく維持して栽培すると、収量に変化なく可食部のCd濃度は低くなることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重金属汚染農地において、いわゆる植物吸収による土壌環境修復を目指すのではなく、土壌から作物への重金属移行を如何に制御し、少なくとも可食部への蓄積を回避するための現実的な栽培管理はあり得るのかを検討した点に学術的・社会的意義がある。特に途上国においては、例え短期的ではあってもフードセキュリティを担保し、本質的な環境修復に対応する時間を確保することも1つの見識として重要であろう。結果的に、牛ふん堆肥の投与が重金属の可給態濃度の減少に効果的であることが示されたが、汚染レベルや重金属共存の影響も確認され、これらに対処するさらなる検討が望まれる。

研究成果の概要(英文)：Removal techniques of heavy metals in contaminated soil are sometimes unfeasible because of high cost and/or low efficiency on a large scale, thus the immobilization process of metals in soils using soil amendments has been gaining prominence as an alternative solution, which aims at suppressing uptake of toxic metals to crops. We focused on the potential of organic matter as an aid in heavy metal-immobilization, and assessed the availability of cow manure, poultry manure and straw for the safe farming by conducting batch tests covering Cu, Cd and Pb. The results from the experiments showed that the cow manure had the highest immobilization effect, and that the effect may increase as maturity proceeds. However, it was also found that the effect on Cd was less than that on the others. The results from plant pot tests using Japanese mustard spinach showed that Cd concentration was limited under the management keeping low soil water content without yield deterioration.

研究分野：地域環境工学

キーワード：重金属 土壌汚染 可給態 不動態 有機物 土壌改良

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

東アジアの一部では、商工業の急速な発展に伴って重金属の使用量が大幅に増加し、それらを含む廃水が灌漑用水を通じて農地に拡散した結果、広域的な重金属汚染が生じている地域もある(黄・中山, 2010). 例えば、中国では耕地総面積の約2割にあたる2000万haの農地が汚染されているとの報告もあるが、農地不足によって、そのような土壌環境においても作付けが余儀なくされている(劉ら, 2004). その結果、作物の生育阻害や収量低下に加え、有害金属を吸収した農作物の摂取による健康被害が慢性化している(Nabulo et al., 2010; Arao et al., 2010). 日本においても、重金属による深刻な健康被害や環境負荷は生じていないものの、人為的発生源以外に自然的に重金属のバックグラウンド値は高い地域が偏在しており、農作物の安全性の担保が課題となっている.

重金属汚染土壌の対策として、従来、客土工のような土木工学的工法が広く適用されてきたが、経済的・労力的な観点から難点もあり、必ずしも有効な措置とはいえない(Houben et al., 2012). また、重金属を植物によって吸収・回収する浄化法(ファイトレメディエーション)が注目されつつあり、多数の研究がなされているものの、吸収した植物の処理コストや圃場中の汚染された植物根残滓に含まれる重金属のその後の挙動に関して、十分な議論はなされていない. すなわち、いずれの浄化法を用いても、迅速かつ環境に負荷を与えずに修復を完結させることは困難である. 特に中国など広範囲に農用地が汚染されている場合には、現実的に全てを浄化させることは不可能である一方で、そうした環境の中でも農業を続けざるを得ない状況にある. ある種の緊急避難的措置であったとしても、汚染土壌の完全な浄化を待つより、汚染土壌でも危険のない作物生産を可能にする栽培管理体系を検討することが望まれている.

### 2. 研究の目的

以上の背景から、重金属の不溶化・不動化に有効な土壌改良材(特に、有機物)の土壌投与について検討し、そのメカニズムの解明(高pH化、還元状態変化、吸着などに起因と推測)を通して、有機物の適切な投与量について明らかにすることを目的とする. ただし、多様な有機物を逐一試行することは非効率であるため、多くの地域で入手しやすい堆肥をベースに検討したい. 堆肥としては牛ふん(以下、CM)をメインに不動化効果を検討した. 加えて、CM以外の有機物も実験を行い、各有機物が有する重金属の不動化効果を比較することで、不動化に有用な有機物の模索を行うとともに、不動化効果が発現されるメカニズムについて検討を行った. また、別途コマツナを用いて重金属の作物への移行量も測定し、汚染土壌でも安全な作物を収穫することのできる土壌管理を模索した.

### 3. 研究の方法

#### (1) 土壌バッチ実験

単一または複数種の重金属を添加した土壌バッチ実験を行った. 対象重金属は毒性や従来の汚染報告例を考慮し、Cu, Cd, Pbの3種を選定した. 供試土壌として鳥取砂丘砂(以下、単に砂丘砂)ならび滋賀水田土(以下、単に水田土)、CMとして市販の牛ふん堆肥を用いた. 重金属不動化に適した有機物の種類や性質を検討するため、CMに加え、鶏ふん堆肥および稲わら(以下、それぞれPMおよびRS)を土壌改良材とした土壌バッチ実験を行った. なお、RSは新鮮なもの(以下、RS<sub>0</sub>)および1, 3ヵ月腐熟させたもの(それぞれ、RS<sub>1</sub>, RS<sub>3</sub>)を用いた. 有機物のうちCM, PMは重量ベースで10%の割合で、RS<sub>0</sub>, RS<sub>1</sub>, RS<sub>3</sub>は重量ベースで5%の割合で、土壌に投与した後、風乾させ供試した. 実験系は、容積50mLのスクリー瓶に充填し、そこに重金属溶液を添加・均質化した. 重金属は硝酸銅三水和物、硝酸カドミウム四水和物、硝酸鉛無水和物の水溶液として、重金属濃度が100 mg kgDW<sup>-1</sup>になるように添加した. このとき、土壌水分状態を圃場容水量程度になるように調整している. 有機物の分解性を考慮し、各条件において重金属を添加後1, 7, 28, 60日に有機物添加土壌中の重金属の化学形態分析を行った. 実験系は実際の現場を模擬するために側面をアルミ箔で遮光した. また、20~30℃の室内にて実験系を保管し、週に1~2回蒸発減少量に相当する補水を行うことで水分状態を維持した. 対照試験(以下、CNTL)として有機物を投与していない条件でも同様の試験を行った.

#### (2) 重金属の化学形態分析

所定期間静置後に実験系を解体し、Tessier et al (1979)の逐次抽出法に準じて土壌中の重金属を化学形態別に分画抽出した. 同法から得られる画分に加え、蒸留水を抽出溶媒とした水溶性画分の分析も行った. すなわち、重金属を移行性の大きい化学形態から順に抽出して計5形態を想定し分画した(Fig. 1). なお、本研究では、植物の吸収に大きく関与する水溶性、イオン交換態(以下、交換態)および環境変化により容易に可溶化する炭酸塩態の計3形態を(作物への)「可給態」として重点的に取り扱う. これ以降に抽出されるFe-Mn酸化物吸蔵態および有機物結合態は「非可給態」とし、重金属の形態が可給態から非可給態に変化することを「不動化」と定義する. 分画した重金属は硝酸による加熱分解(100℃, 1h)を行い、定量ろ紙(No. 5B)を用いてろ過した後、ICP発光分析装置で測定した. 測定結果はイットリウム(Y)を内標準物質とした強度比法により補正を行っている. 各種有機物による重金属の不動化効果は、CNTLに対する可給態濃度の減少率によって評価した.

(3) 土壌および有機物の理化学性分析

各供試土壌および有機物の理化学特性として、有機物含量、pHおよびC/N比の測定を行った。有機物含量の指標として強熱減量試験を用い、同試験の公定法に従い、電気マッフル炉内において750±50℃で試料が恒量になるまで加熱して、質量減少率を有機物含量とした。ただし、有機物の試料については単体で測定することが困難であったため、有機物混合土壌の有機物含量を測定した後、混合比から逆算することで間接的に求めた。pHは固液比1:5(乾土:水)の懸濁液を振とう後、上澄み液をガラス電極式pH計で測定し、C/N比は元素分析計を用いて測定した。

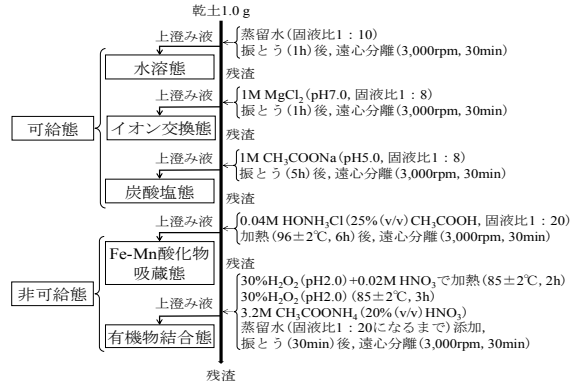


Fig.1 逐次抽出法の操作フロー

(4) 植物ポット実験

コマツナを用いた植物ポット実験は温室内において実施した。コマツナは市販されているものを使用した。供試土をワグネルポット(1/5000 a)に充填した後コマツナの種子を播種し、温室内にて栽培した。期間中は温室内の温度と湿度を継続的に測定した。重金属の添加濃度は、土壌バッチ試験と同じく、100 mg kgDW<sup>-1</sup>とし、Cd単一添加、Cu単一添加、CdとCuの2種混合添加の条件で実験を行った。また、重金属を添加せず蒸留水のみを与えた対照実験も実施した。なお、2種混合の条件では、CdとCu合計で200 mg kgDW<sup>-1</sup>添加している。土壌水分管理は、湿润状態(pF 1.5)と乾燥状態(pF 2.5)の2条件を行い、土壌水分量を維持するために、1~3日おきに蒸発散損失相当量の水を補給した。反復回数は3回である。実験終了後、植物体を葉と根に分断してから80℃で72時間乾燥、細断し、乾燥重量を測定した。根は1%HClによって5秒間洗浄することで付着土を除去した。その後、葉と根の一部を取り、秤量した後、HNO<sub>3</sub>:10ml, HClO<sub>4</sub>:2.5ml, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:5mlを加えて酸分解した溶液をICP発光分析装置による分析に供した。土壌は、土壌バッチ試験と同様の抽出と前処理を施し、重金属の形態分析に供した。植物への移行は、葉部の重金属濃度と土壌中の可給態重金属濃度の比である蓄積係数LF(Khan et al., 2017)、ならびに根部の重金属濃度と土壌中の可給態重金属濃度の比である根移行係数RFの2つの指標を用いて評価した。

4. 研究成果

(1) 作土中の重金属スペシエーション評価

各有機物混合時における単一添加条件下での土壌中の可給態濃度の経日変化をFig.2に示す。Cuでは汚染濃度(初期濃度100 mg kgDW<sup>-1</sup>)の60~70%、Cd、Pbでは70~80%が可給態となって

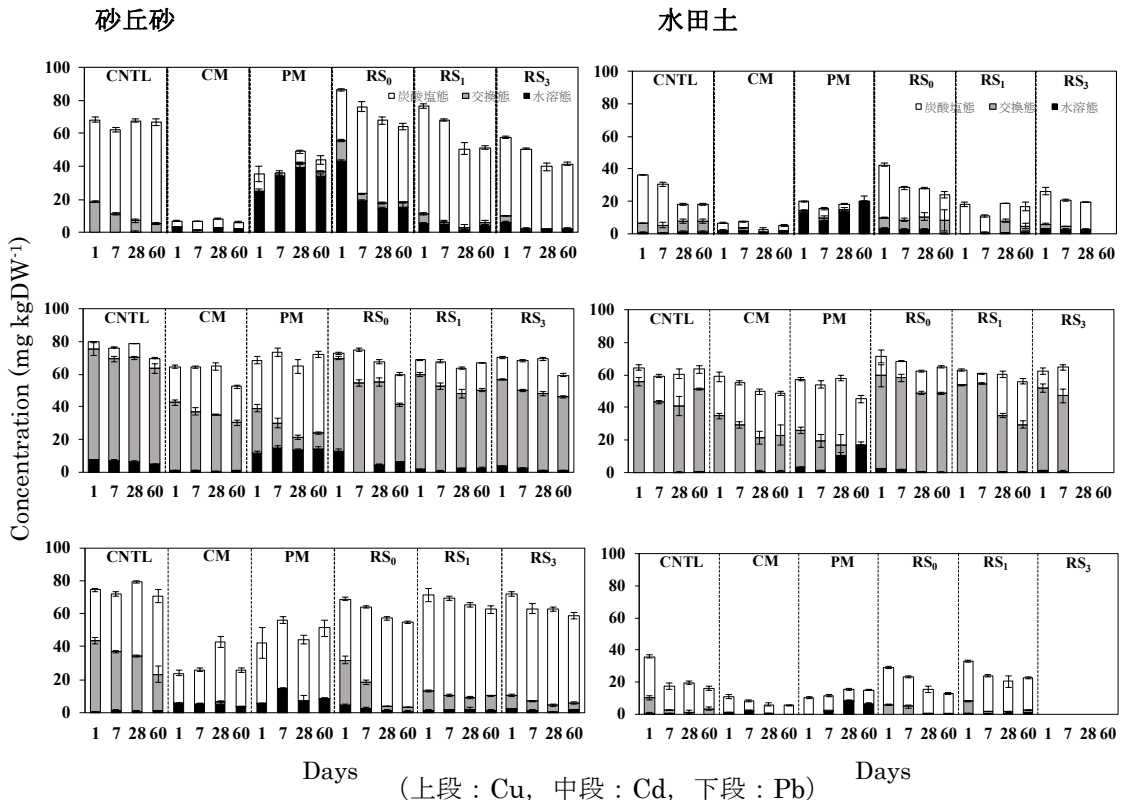


Fig.2 各有機物投与時における可給態濃度の経日変化

おり、汚染水が土壌に供給された後、少なくとも1日後には重金属の一部は非可給態になることがわかる。各種重金属のCNTLに着目すると、スペシエーションは重金属種ごとに異なっていることがわかる。特にCdでは、水溶態および交換態で可給態（すなわち、水溶態+交換態+炭酸塩態）の8割以上を占めており、他の重金属とは大きく異なる。可給態の中でも、化学形態によって移行性は異なり、水溶態、交換態、炭酸塩態の順に移行性しにくくなる。したがって、CdはCuやPbと比較して移行しやすいことといえる。CNTLにおいて顕著であったが、時間経過に伴い交換態が減少し、一方で炭酸塩態が増加するという傾向がみられる。すなわち、交換態と炭酸塩態は相補的な関係となっており、時間経過に伴って移行性は小さくなっていることがわかる。一方、水田土では、全期間を通じ、Cd、Cu、Pbの可給態濃度はCNTLに対しCMでそれぞれ7~24%、72~87%、52~70%減少している。砂丘砂を用いた試験でも同様の傾向を示しており、粘土分の多い水田土でもCMによる重金属の不動化効果が確認できた。

### (2) 土壌改良材の投与による重金属の移行特性変化

Fig. 2 から、砂丘砂を用いた場合、CuとPbの可給態濃度は、CM投与ではCNTLに対してそれぞれ88~91%、46~68%減少した。また、水田土を用いた場合でも、CM投与による可給態濃度の減少率は、実験期間を通じてCuで76~87%、Cdで5~24%、Pbで52~70%であり、使用した有機物の中で最も高い不動化効果を示した。しかし、両土壌ともに、CM投与時でもCdについては可給態濃度の減少率が他の重金属に比べ小さく、CNTLに対して16~25%にとどまった。PMでもCu、Pbで可給態濃度が減少し、不動化効果がCMに次いで大きくなった。しかしながら、CMでは移行性の高い水溶態濃度が低かったのに対し、PMではその濃度が他の有機物よりも高くなる結果となり、移行性の観点からもPMでの不動化効果はCMに比べ小さいことがわかった。水田土でも、砂丘砂の場合と同様、いずれの重金属においてCMに比して可給態の減少率が小さい上に、移行性の高い水溶態濃度が増加し、重金属の不動化には必ずしも適さないことが示唆された。ここで、各有機物のC/N比をみると、Table 1に示されているように、CMとPMでC/N比に大きな違いは見られない。しかし、重金属の化学形態が両有機物間で大きく異なったことから、有機物が有するC/N比以外の化学成分ないし物理的構造が、重金属の移行性、ひいては可給性に関与していると推察される。

RSの腐熟度と可給態濃度の減少程度を比較すると、砂丘砂ではCuにおいて、RS<sub>0</sub>よりもRS<sub>1</sub>やRS<sub>3</sub>を投与した場合、可給態濃度が減少し、有機資材を腐熟させることによって重金属（特にCu）の不動化効果が向上することが示唆された。一方、水田土では砂丘砂ほどの不動化効果の増加は見られなかったものの、RS<sub>0</sub>を投与した場合に比べて、腐熟させることで可給態濃度の低下は見られた。なお、CdおよびPbの可給態濃度はRSの腐熟度に関わらずほぼ一定であった。

Table 1 土壌および有機物の化学的性状

試料	有機物含量 (%)	pH(H <sub>2</sub> O)	C/N比
砂丘砂	1.07	6.3	—
水田土	7.64	5.5	7.89
CM	63.16	6.7	11.98
PM	63.82	7.5	7.70
RS <sub>0</sub>	76.08	5.8	67.01
RS <sub>1</sub>	70.28	7.6	39.63
RS <sub>3</sub>	75.68	7.8	20.69

### (3) 供試作物体への重金属の移行特性評価

実験終了時の葉と根の乾燥重量をFig. 3に示す。CNTLでは、pF 2.5で葉と根ともにpF 1.5に比べて乾燥重量が低下しているが、Cd単一添加では違いはみられない。部位別の重金属濃度をFig. 4、土壌中の化学形態別存在量と葉、根内の量をFig. 5に示す。また、Fig. 6にLF、RFを示す。Cd単一では、pF1.5に比べpF 2.5で葉と根のCd濃度と移行係数が顕著に小さい。土壌中の可給態濃度は交換態の増加により若干pF 2.5で大きくなっているにも関わらず、吸収量が減少していることから、低水分管理によって吸水が抑制されたことにより、Cdの吸収量が根、葉ともに小さくなったと考えられる。

重金属共存の影響について、pF 1.5におけるCdとCuの共存の影響をみると、葉と根の乾燥重量に有意差はない。葉の重金属濃度はCd、Cuともに変化がないが、根のCd、Cu濃度は、共存により大きく低下している。葉と根の移行係数にも同様の傾向がみられる。土壌中では、単

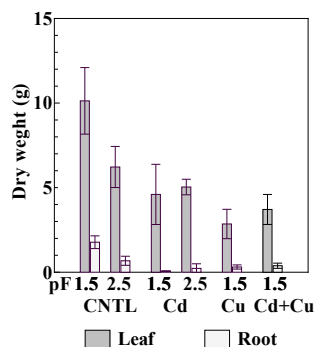


Fig. 3 葉と根の乾燥重量\*

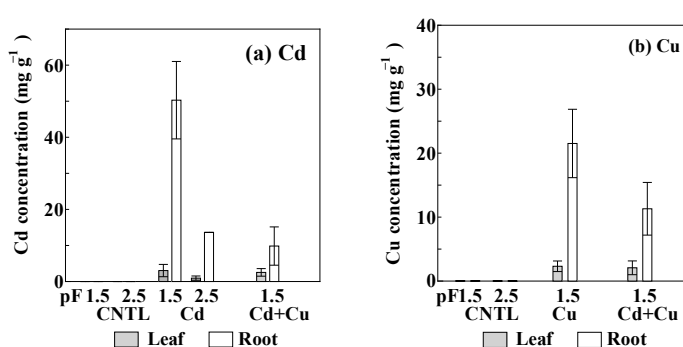


Fig. 4 植物体部位別の重金属濃度\*

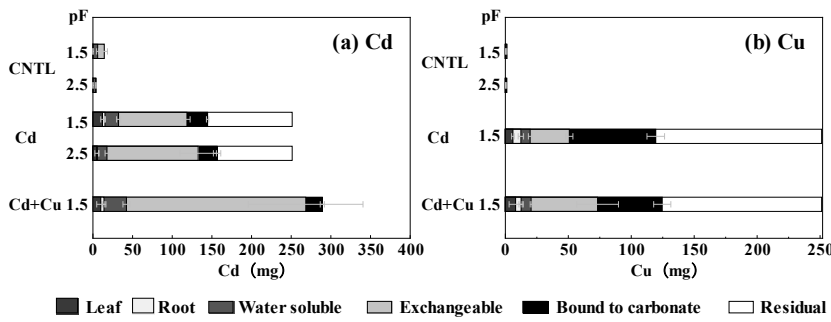


Fig. 5 重金属の土壤中化学形態別存在量と葉，根内の量\*  
(\* Figs. 3~6 中のエラーバーは標準偏差)

一条件の Cd は交換態，Cu は非可給態，続いて炭酸塩態の占める割合が大きく，共存すると，Cd では交換態の増加と非可給態の減少，Cu では交換態の増加と炭酸塩態の減少がみられる。いずれも共存によって植物への移行性があると考えられる交換態が増加している。したがって，共存により植物への移行が促進されると予想されるが，実際は前述した通りである。共存によって根への重金属の付着が競合するため，ある重金属に着目したときの付着量が減少した可能性がある。また，共存による交換態の増加は葉への吸収量の増加に寄与しないことが示唆される。

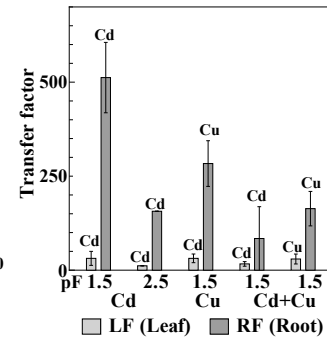


Fig. 6 移行係数\*

#### (4) 土壌の物理化学特性の評価と農地の管理

本研究では，土壌の酸化還元電位に関する実験・考察を試みたが，最終的には pH と重金属各態との相関性の検討に留まってしまった。砂丘砂 CNTL における土壌 pH と形態別濃度の関係について，各組合せの相関係数を Table 2 に整理した。結果として，「水溶態＋交換態」と負の相関，「炭酸塩態」と正の相関がみられ，形態別にみると，pH 上昇は重金属の移行性を減少させることが確認された。すべての重金属種で相関が高かった「水溶態＋交換態」と pH の関係をみると，共通して負の相関がみられるものの，その依存度は種によって異なっており，回帰式の勾配から特に Cu は pH 変化の影響を受けやすいことが示唆された。なお，CM でも整理を試みたが，pH の変動幅が小さく明確な相関は確認できなかった。本研究からの結果のみから，不動化効果に有効な農地管理の模索は難しい。今後，不動化メカニズムをさらに詳細に把握しつつ，当該効果が十分に発現される農地の管理形態を検証していく必要がある。

Table 2 pH と形態別濃度の相関係数

重金属	化学形態				
	水溶態	交換態	炭酸塩態	水溶態＋交換態	可給態
Cu	-0.77**	-0.86**	0.89**	-0.87**	-0.41
Cd	-0.65*	0.43	0.57	-0.85**	-0.74**
Pb	0.04	-0.78**	0.84**	-0.78**	0.01

\* :  $p < 0.005$ , \*\* :  $p < 0.001$

#### <引用文献>

- ①黄 琬惠，中山 徹，日本の農用地土壌汚染対策に関する研究—東アジアの稲作地域における土壌汚染対策と土地利用について その1—，日本建築学会技術報告集，16(33)，2010，671-676
- ②劉 芳，仁田義孝，横田 勇，中国における土壌保全法整備の現状および課題—環境情報開示の視点から—，環境科学会誌，17(1)，2004，5-14
- ③Nabulo, G., Young, S. D., Black, C. R., Assessing risk to human health from tropical leafy vegetables grown on contaminated urban soils, Science of the Total Environment, 408, 2010, 5338-5351
- ④Arao, T., Ishikawa, S., Murakami, M., Abe, K., Maejima, Y., Makino, T., Heavy metal contamination of agricultural soil and countermeasures in Japan, Paddy and Water Environment, 8(3), 2010, 247-257.
- ⑤Houben, D., Pircar, J., Sonnet, P., Heavy metal immobilization by cost-effective amendments in a contaminated soil: Effects on metal leaching and phytoavailability, Journal of Geochemical Exploration, 123, 2012, 87-94.
- ⑥Tessier, A., Campbell, P. G. C., Bisson, M., Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals, Analytical Chemistry, 51(7), 1979, 844-851.
- ⑦Khan Z. I., Ahmad K., Rehman S., Siddique S., Bashir H., Zafar A., Sohail M., Ali S., Cazzato E., De M. G., Health risk assessment of heavy metals in wheat using different water qualities: implication for human health, Environmental science and pollution research international, 24(1), 2017, 947-955

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

① S. Sakurai, Y. Nishiura, H. Horino and T. Nakagiri, Variation in speciation and availability of phosphorus in paddy soil, Open Journal of Soil Science, 査読有, Vol.8, 2018, 213-224

DOI: 10.4236/ojss.2018.89017

② 金森 拓也、堀野 治彦、櫻井 伸治、中桐 貴生、中村 公人、砂丘砂における重金属移行抑制に資する有機堆肥の有用性、農業農村工学会論文集、査読有、308号、2019、I\_37-I\_43

DOI: [https://doi.org/10.11408/jsidre.87.I\\_37](https://doi.org/10.11408/jsidre.87.I_37)

〔学会発表〕(計13件)

① S. Sakurai, Y. Nishiura, H. Horino and T. Nakagiri, Speciation Variation and Availability of Phosphorous in Paddy Soil, PAWEES-INWEPF, 2018

② 松尾奈保、堀野治彦、櫻井伸治、中桐貴生、金森拓也、土壌の水管理や土壌改良材投与が重金属不動態に与える影響、農業農村工学会京都支部、2018

③ 原 百花、中村公人、烏英格、櫻井伸治、堀野治彦、川島茂人、Cd 共存と土壌水分量の違いがコマツナによる Cu と Pb の吸収に与える影響、土壤物理学会、2018

④ 金森拓也、堀野治彦、櫻井伸治、中桐貴生、有機堆肥の投与が砂質土壌中の重金属可給性に及ぼす影響、農業農村工学会、2018

⑤ 宮崎直紀、中村公人、烏英格、堀野治彦、櫻井伸治、中桐貴生、川島茂人、コマツナの重金属吸収に及ぼす土壌水分抑制と重金属共存の影響、土壤物理学会、2017

⑥ 金森拓也、堀野治彦、櫻井伸治、中桐貴生、有機物が砂丘砂の重金属可給性に及ぼす影響、農業農村工学会京都支部、2017

⑦ 櫻井伸治、堀野治彦、佐原大理、金森拓也、中桐貴生、中村公人、有機物が水田土壌の重金属不動態に与える影響、農業農村工学会、2017

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：中村 公人

ローマ字氏名：(NAKAMURA, kimihito)

所属研究機関名：京都大学

部局名：大学院農学研究科

職名：准教授

研究者番号 (8桁)：30293921

研究分担者氏名：中桐 貴生

ローマ字氏名：(NAKAGIRI, takao)

所属研究機関名：大阪府立大学

部局名：大学院生命環境科学研究科

職名：准教授

研究者番号 (8桁)：80301430

研究分担者氏名：櫻井 伸治

ローマ字氏名：(SAKUARAI, shinji)

所属研究機関名：大阪府立大学

部局名：大学院生命環境科学研究科

職名：助教

研究者番号 (8桁)：30531032

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：金森 拓也

ローマ字氏名：(KANAMORI, takuya)