

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03087

研究課題名(和文)最先端X線分光法を駆使した水田土壌表層へのヒ素濃集機構の解明と土壌修復への応用

研究課題名(英文) Study on arsenic accumulation mechanism in surface layer of paddy soils using advanced X-ray spectroscopy and its application to soil remediation technique

研究代表者

光延 聖 (Mitsunobu, Satoshi)

愛媛大学・農学研究科・准教授

研究者番号：70537951

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、現在、世界で最も深刻な水田汚染を引き起こしている無機ヒ素(As)の水田土壌系における挙動解明をおこなった。とくに、湛水した水田土壌において特異的に起きる表層土壌へのAs濃集現象に関わる要因の解明をおこなった。実験の結果、湛水によって生じた酸化還元状態の深度間分化によって、Asが深部で還元され、酸化された表層へ拡散/再酸化されることで土壌鉱物へ吸着しやすくなることでAs濃集が起きることが明らかとなった。得られた知見は、アジア諸国や日本の汚染水田サイトにおける広域As挙動の解明はもちろんのこと、汚染水田からAsを効率的に除去する新たな土壌修復法へ応用できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒ素は水田土壌のみならず最も深刻な土壌・水質汚染を引き起こしている有害元素の一つである。土壌中で特異的に起きる濃集現象の本質的な要因を分子レベルで明らかにした本研究はヒ素の環境中における拡散濃集メカニズムを考察する上でも重要な知見となる。将来的には、表層土壌へのヒ素濃集現象を応用することで、汚染水田からAsを高効率、低コスト、低環境負荷で除去する新たな土壌修復法へ応用できると考えており、今後も更なる研究を進めていく。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the behavior of inorganic arsenic (As), which is currently the most serious pollutant of rice paddies in the world paddy soils. In particular, we investigated the factors related to the As accumulation in the surface soil layer that occurs specifically in waterlogged paddy soils. The experimental results showed that As is reduced in the deep layer and diffused/re-oxidized to the oxidized surface layer due to the depth-differentiation of the redox state caused by waterlogging, and that As is easily adsorbed on soil minerals. The obtained findings can be applied to new soil remediation methods for efficient removal of As from pollutant paddy fields, as well as to elucidate the regional As behavior at pollutant paddy field sites in Asian countries and Japan.

研究分野：土壌化学

キーワード：水田土壌 ヒ素 スペシエーション 微生物

1. 研究開始当初の背景

現在、世界で最も深刻な水田汚染を引き起こしている物質は猛毒の無機ヒ素 (As) である。インド、バングラデシュ、タイ など多くのアジア諸国では、自然由来の As によって水田土壌やコメが大規模に汚染され、5000 万人以上の住民が深刻な被害に苦しんでいる (Stuckey et al., 2015, *Nature Geosci.* など)。日本でも As による水田土壌の汚染事例は多い。最新の疫学研究から、日本人が摂取する無機 As の 6 割以上はコメ由来であり、継続的にコメを摂取することで発癌リスクが有意に増大すると指摘される (Oguri et al., 2017 など)。コメ中 As の一次ソースは土壌中 As であり、水田土壌の As 低減は日本人の健康リスクを鑑みても非常に重要である。

このように水田土壌中の As の挙動解明 (および低減対策) は、日本を含めたアジア圏の水田保全を考える上で、重要かつ喫緊性の高い課題である。しかし、依然として As の挙動には未解明な点が多く、課題解決に至っていない。未解明な点が多い最大の理由は、As が土壌中で主に無機体として存在し、3 価 (As(III)) と 5 価 (As(V)) の 2 つの価数をとる点にある。つまり、As は有機汚染物質に比べて土壌にきわめて強く吸着しやすく、その吸着特性も価数や土壌条件によって複雑に変化するため、挙動予測 (や土壌修復) が非常に困難である。

申請者らは上述したアジア圏の水田 As 汚染について研究を進めてきた。汚染土を用いて再現実験を繰り返した結果、土壌を湛水することによって、As が水田土壌の表層数ミリメートルに強く濃集するという興味深い現象を見出した。この現象は、最近申請者らが見出した新奇な現象であり、我々の知る限り、同様の現象は報告されていない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、申請者らが見出した水田土壌表層への As 濃集現象の化学的、微生物学的メカニズムを解明することを目的とした。この As 濃集現象のメカニズムを明らかにすることで、アジア諸国や日本の汚染水田サイトにおける広域 As 挙動の解明はもちろんのこと、汚染水田から As を効率的に除去する新たな土壌修復法へ応用できる。

3. 研究の方法

土壌は様々な物質から成る複雑な多孔質体であり、土壌への As 濃集現象の解明には高い空間分解能で As 化学種と微生物代謝を解析できる分析法が必要である。本研究では、申請者らが確立した 2 つの先端的分析法 (a) 局所化学種分析が可能なマイクロ XAFS 法 (μ XAFS 法)、(b) 土壌薄切と定量 PCR 法を組み合わせた As 代謝微生物の深度別解析法を適用した (Mitsunobu et al., 2012; 2013)。

4. 研究成果

(1) As 濃集を引き起こす化学的素過程の解明

放射光源 μ XRF-XAFS 法をもちいて直接分析から土壌中の As および関連元素の化学種、分布を深度別かつ経時的に決定した。分析試料として、表層土壌への As 濃集が室内実験系にて確認された水田土壌試料をもちいた。 μ XRF による局所元素分析をおこなった結果、As は表層 1 ~ 5 mm の厚みで水田土壌表層へ濃集しており、土壌に含まれる As 全体の 10 ~ 20%

が表層へ濃集していることがわかった。共存する土壌元素の分布についても調べたところ、As は Fe および Ca と高い相関を有することがわかった。As は 3 価、5 価ともに土壌中でオキシ陰イオンとして存在するため、表面に正電荷を有する鉱物(水酸化鉄鉱物、炭酸塩鉱物)に高い親和性を持つことが知られている。As に親和的な土壌鉱物の存在が、元素分布の相関に影響を与えていることが示唆される。次に μ XAFS 法を用いて、表層の As 濃集層、深部の As 溶脱層の As と関連元素の化学種(価数、ホスト鉱物、吸着状態)をマイクロスケールで直接決定した。As の μ XAFS 分析の結果から、最表層に濃集している As の価数が土壌鉱物(例えば、水酸化鉄鉱物)と親和性の高い As(V)であるのに対し、深部では親和性の低い As(III)として存在していることがわかった。また濃集部の EXAFS 解析結果は As(V)が水酸化鉄鉱物に吸着(または共沈)して存在していることを示した。これらのことから、観察された最表層(深度 0~1 mm)の As 濃集は、As(III)から As(V)への価数変化によって引き起こされたと示唆される。これに対し、下層の As 濃集部では As 価数が As(III)であるため、濃集には As の価数変化以外の要因が考えられる。鉄の μ XAFS 分析から As のホスト鉱物を同定した結果、下層濃集部の As のホスト鉱物は上層とは異なり magnetite (Fe_3O_4)であった。弱還元環境で生成される magnetite は他の酸化鉄鉱物とは異なり、As(III)と高い親和性を持つことが報告されており、このことから As の下層濃集はホスト鉱物である鉄鉱物種の変化によって引き起こされたと考えられる。

(2) As 濃集現象への微生物影響の評価

μ XRF-XAFS 分析にもちいた同じ土壌試料(長さ 10 cm 程度の土壌コア)をもちいて As 濃集現象への微生物影響を評価した。深度別(3 mm 毎)に土壌コアから遺伝子を抽出して、抽出 DNA に含まれる 16S rRNA 遺伝子(バクテリア共通)、As 代謝微生物の遺伝子群(As(III)酸化: *aio*, *arx*, As(V)還元: *arr*)のコピー数を定量 PCR 法で定量した(相対コピー数 細胞数比)。これらの遺伝子量(または 16S 比)を土壌中の As 価数の深度分布と比較した。

その結果、As 酸化関連遺伝子は土壌表層(深度 0~3 mm)で最も多く観察され、深度とともに徐々に減少していった。逆に As 還元関連遺伝子は、表層深度では遺伝子量、16S 比ともに少なく、土壌深部(深度 5 cm 以降)が最も多かった。これらの As 関連遺伝子の深度分布は、土壌中の As 価数分布(表層: As(V)優勢、深部: As(III)優勢)と調和的である。この As 関連遺伝子の土壌深度分布は、滅菌土壌では観察されないため、水田土壌中の As の酸化反応および還元反応には土壌微生物が大きな影響を与えていると考えられる。上述の通り、土壌表層への As 濃集挙動は水田特有の酸化還元状態の分化とそれに鋭敏に応答する As 酸化/還元反応の結果として生じるため、微生物が関与する As 酸化還元反応がマクロな現象である As 濃集挙動に大きな影響を与えうることが本研究から明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mitsunobu Satoshi, Toda Misa, Hamamura Natsuko, Shiraiishi Fumito, Tominaga Yurika, Sakata Masahiro	4. 巻 274
2. 論文標題 Millimeter-scale topsoil layer blocks arsenic migration in flooded paddy soil	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Geochimica et Cosmochimica Acta	6. 最初と最後の頁 211 ~ 227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gca.2020.01.038	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mitsunobu Satoshi, Hiruta Takuya, Fukudo Jinsuke, Narahashi Yuna, Hamamura Natsuko, Matsue Naoto, Takahashi Yoshio	4. 巻 373
2. 論文標題 A new method for direct observation of microscale multielemental behavior in waterlogged soil: μ XRF- μ XAFS combined live soil imaging chamber (LOACH)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Geoderma	6. 最初と最後の頁 114415 ~ 114415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.geoderma.2020.114415	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mitsunobu S., Ohashi Y., Makita H., Suzuki Y., Nozaki T., Ohigashi T., Ina T., Takaki Y.	4. 巻 87
2. 論文標題 One-Year In Situ Incubation of Pyrite at the Deep Seafloor and Its Microbiological and Biogeochemical Characterizations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 e00977-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/aem.00977-21	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Johan Erni, Fernando Verónica Américo Antnio, Sadia Salma, Mitsunobu Satoshi, Hirai Soichiro, Matsue Naoto	4. 巻 12
2. 論文標題 A new tool for disinfecting household drinking water for rural residents: protonated mordenite-embedded sheet	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development	6. 最初と最後の頁 271 ~ 277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2166/washdev.2022.202	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 光延 聖	4. 巻 141
2. 論文標題 直接分析から土壌や堆積物の微生物？ 元素？ 鉱物相互作用を観察する	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 土壌の物理性	6. 最初と最後の頁 49～55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.34467/jssoilphysics.141.0_49	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 光延聖・福堂仁介・松枝直人（愛媛大・院農）
2. 発表標題 1ミリメートルの空間分解で水田土壌の間隙水を採取する方法の確立
3. 学会等名 日本土壌肥料学会関西支部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 光延 聖・福堂 仁介・昼田 拓哉
2. 発表標題 生きた水田土壌を放射光で観る～元素の濃度分布と化学状態をマイクロスケールで直接観察する手法の確立～
3. 学会等名 日本土壌肥料学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 光延聖・福堂仁介・松枝直人
2. 発表標題 ミリメートルの空間分解で水田土壌の間隙水を採取する方法の確立 - Live Soil Imaging Chamber (LOACH) システムの完全構築へ向けて -
3. 学会等名 日本土壌肥料学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松本 真悟 (Matsumoto Shingo) (00346371)	島根大学・学術研究院農生命科学系・教授 (15201)	
研究分担者	白石 史人 (Shiraishi Fumito) (30626908)	広島大学・先進理工系科学研究科(理)・准教授 (15401)	
研究分担者	加藤 真悟 (Kato Shingo) (40554548)	国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・開発研究員 (82401)	
研究分担者	濱村 奈津子 (Hamamura Natsuko) (50554466)	九州大学・理学研究院・准教授 (17102)	
研究分担者	S H U K L A E L V I S . A N U P (Shukla Anup) (70833721)	愛媛大学・防災情報研究センター・准教授 (16301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------