

機関番号：14101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21710077

研究課題名（和文）植物根圏の重金属析出機構の解明による植生修復が可能な不溶化技術の開発

研究課題名（英文）Immobilization of heavy metals in rhizosphere soils: formulation of phytostabilization technology

研究代表者

橋本 洋平（Yohey Hashimoto）

三重大学・大学院生物資源学研究科・准教授

研究者番号：80436899

研究成果の概要（和文）：

鉱山跡地や射撃場の重金属汚染現場では、荒廃植生の回復と、鉛毒性低下・溶出抑制という2つの問題に対応することが求められる。本研究では汚染土壌の不溶化処理について、(1)不溶化資材を添加した土壌の鉛の溶解性ならびに化学形態の定性・定量(2)鉛不溶化と植物生育に伴う微生物生態系への影響を評価すること目的とした。不溶化資材を添加した土壌では、溶解性の比較的高い $PbCO_3$ と鉛-有機物吸着態の存在比が減少し、溶解性の低い形態（鉛-リン化合物、Mn/Fe 吸蔵態）に変化したことが、放射光源 EXAFS 解析によって明らかになった。一部の植物の根圏域では、土壌中の鉛形態の変化が促進されることも分かった。不溶化処理をした鉛汚染土壌中の DNA を抽出し、真正細菌の 16S rDNA を標的とした DGGE 法を用いて土壌中の細菌叢の群集構造を評価した。土壌 pH を 7～7.5 程度にすることで植物の地上部に吸収される鉛の濃度が減少し、土壌細菌叢の多様性の促進に効果が見られた。

研究成果の概要（英文）：

To formulate successful phytostabilization strategies in a shooting range soil, understanding how heavy metals are immobilized at the molecular level in the rhizosphere soil is critical. The objectives of this study were to investigate i) how Pb speciation was modified in the rhizosphere soils of various plant species, and ii) solubility of Pb pellet in rhizosphere and subsequent impacts on soil ecosystems. Lead (Pb) speciation and solubility in rhizosphere soils of five different plant species were investigated using extended X-ray absorption fine structure (EXAFS) spectroscopy and chemical extraction. The EXAFS analysis indicated that Pb occurred as $PbCO_3$, Pb sorbed to organic matter, and Pb sorbed to pedogenic birnessite and/or ferrihydrite in the bulk soil. Comparison of the EXAFS spectra between bulk and rhizosphere soils demonstrated notable differences in fine structure, indicating that Pb species had been modified by rhizosphere processes. Denatured gradient gel electrophoresis demonstrated that Plant growth in the contaminated soil appeared to enrich bacterial populations since the general band profile exhibited in the rhizosphere soil was brighter than the control soil. Bacterial diversity was enhanced in the soil with the pH value of ~7.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,300,000	390,000	1,690,000

研究分野：土壌化学

科研費の分科・細目：環境学・環境技術・環境材料

キーワード：土壌汚染，不溶化，重金属，射撃場

1. 研究開始当初の背景

鉛による土壤汚染は、射撃場跡地内において顕著に発生している。汚染源は使用される散弾に含まれる鉛である。射撃場土壤では散弾の侵食が進み、一般的な酸化状態の土壤において、鉛は炭酸塩態および酸化形態として存在している。これらの鉛形態は溶解しやすいため、土壤からの鉛溶出を抑制する対策が必要である。

このような汚染現場に対応するための対策の一つとしては、費用効果が高い不溶化技術が研究されている。一般的な不溶化技術は、薬剤等を重金属汚染土壤と混合し、重金属を物理的に固定化、または化学的に安定化した形態に変化させて、土壤中や地下水への溶出を防ぐ方法である。鉛の場合には、リンを含む資材が有効であるが、これは鉛がリンと溶解性の極めて低い緑鉛鉱 $[Pb_5(PO_4)_3Cl, \text{Log } K_{sp} = -84.4]$ を形成するためである。

安価で環境負荷の低い不溶化技術は、射撃場および鉱山跡地の広範な重金属汚染対策として有効である。高濃度に汚染された土壤では、植生や土壤生態系が荒廃している。したがって、多くの汚染現場で急務とされる荒廃植生の回復と、鉛毒性低下・溶出抑制という問題に対応するためには、緑化と金属不溶化の両方に対応した対策技術の開発が必要である。

2. 研究の目的

前述したように、荒廃植生の回復と、鉛毒性低下・溶出抑制に対応した対策技術の開発が必要であるという背景を鑑みると、土壤中の鉛がどのような化学形態で不溶化されるのか、ならびにその化学形態が植物根からの影響を受けてどのような挙動をするのかについて明らかにする必要がある。また、射撃された鉛弾が植物の根圏作用（物理化学的な溶解・侵食作用）の影響を受けることによって、土壤中への鉛の溶解性や土壤生態系の影響を評価することも重要であると考えられる。

本研究では、植物根の生理活性を受ける根圏土壤を対象として次の2つの研究目的を設定した。

(1)不溶化資材を添加した土壤の鉛の溶解性ならびに化学形態の定性・定量 (2)鉛不溶化と植物生育に伴う微生物生態系への影響を評価すること目的とした。

3. 研究の方法

1) 各種植物の根圏土壤における鉛形態変化

不溶化資材（水酸アパタイト）を添加した鉛汚染土壤に植物（ソバ、ライグラスなど）をそれぞれ生育させ、100日間生育させた。その後採取した根圏土壤中の鉛を分析し、植物ならびに資材の有無による不溶化効果や化学形態の評価を行った。

2)根圏作用が鉛弾の溶出と土壤の微生物生態系に

及ぼす影響

土壤の pH と植物根圏作用による鉛弾の溶解性に及ぼす影響を明らかにするために、新品および射撃場内で長期間風化された鉛弾をそれぞれ土壤に添加し、炭酸カルシウムを添加して土壤 pH を 5, 7, 9 の 3 段階に調製後、ペレニアルライグラスの栽培試験を 100 日間実施した。この土壤に溶出試験を適用して鉛の溶解性を評価した。土壤中の DNA を抽出し、この DNA 中の真正細菌の 16S rDNA を標的とし、DGGE 法を用いて土壤中の細菌叢の群集構造を評価した。

4. 研究成果

1) 各種植物の根圏土壤における鉛形態変化

各種植物の根圏土壤における鉛の溶解性（SPLP 溶出試験）と pH は、無処理と比較して差異が見られなかった（3.3 mg Pb/L, pH~7.4）。鉛の溶解性はリン資材の添加によって 0.48 mg/L まで低下したが、資材を添加したソバの根圏土壤の鉛溶出は抑制されなかった（2.41 mg/L）。この結果は、特定の植物の根圏土壤において、資材添加による鉛の不溶化が促進されないことを示唆している。熱力学モデルによる溶液中の鉛形態は、資材を添加した土壤において $Pb_5(PO_4)_3Cl$ 、資材を添加しない土壤において $PbCO_3$ として飽和・過飽和の状態にあると推測されたが、植物根の生育によってこれらの鉛化学種に影響は見られなかった。

不溶化資材を添加した土壤から根を採取し、その表面に付着していた微細粒子の分析を SEM-EDX により分析した（図 1）。この微粒子表面からは、Pb と P がのシグナルが確認されたことから、根の表面では鉛-リン化合物（例、 $Pb_5(PO_4)_3Cl$ ）が形成されて鉛が不溶化されることが示唆された。この結果は、溶出試験によって一部の植物の根圏土壤からの鉛溶出が抑制された結果と一致している。

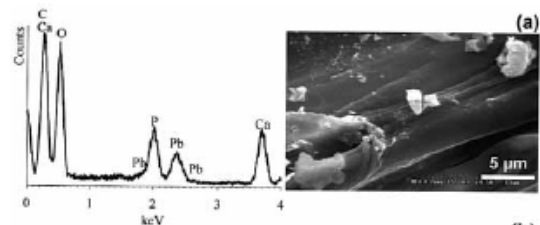


図 1. 植物根表面に付着した土壤粒子の SEM 画像と、EDX による元素分析

放射光源 XAFS 分析によって土壤の鉛形態を分析したところ、鉛の化学形態を示す Pb-EXAFS スペクトルは、不溶化資材の添加によって明らかに変化が見られた。Pb-EXAFS スペクトルは、植物

種の根圏土壌や (b), 資材と植物の組合せ (c) によっても変化することが確認された。この結果は、土壌の鉛が植物根ならびに不溶化資材によって、その化学形態が顕著に影響を受けることを示している (図 2)。

鉛標準試料を用いた EXAFS スペクトルのフィッティング解析を行い、土壌鉛の形態を定量・定性した。その結果、土壌には PbCO_3 (38%), Pb 有機物結合態 (20%), Pb-Mn/Fe 吸蔵態 (15%) を含むことが確認された。資材を添加した土壌では鉛の形態が変化し、 $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ (31%), Pb-Mn/Fe 吸蔵態 (35%), Pb 有機物結合態 (11%) となった。資材を添加した植物根圏土壌では、資材のみの処理と比較して $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ は変化しなかったが、 Pb-Mn 吸蔵態 (51-57%) の存在比が増加した。

EXAFS 解析による結果は、資材を添加した根圏土壌で、溶解性・移動性の比較的高い PbCO_3 と有機物結合態の存在比が減少し、溶解性の低い形態 (リン, Mn/Fe 吸蔵態) に変化したことを示しており、土壌全体として鉛の不溶化が一部の植物の根圏域で進行したことを示唆する。本研究では、土壌の全鉛の 30% 程度しか溶解性の低い形態 [$\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$] として不溶化されないことが確認され、これまで有効性が高いとされてきたリン資材による不溶化の不完全性を指摘した。

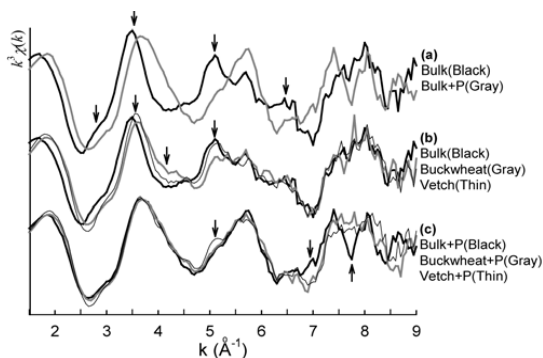


図 2. 土壌の Pb-EXAFS スペクトル. (a) 無処理と資材添加土壌の比較 (b) 無処理, ソバおよびベッチ根圏土壌の比較 (c) 資材添加, 資材+ソバ根圏, 資材+ベッチ根圏土壌の比較.

2) 根圏作用が鉛弾の溶出と土壌の微生物生態系に及ぼす影響

TCLP 溶出試験の結果、pH5 の土壌からは最大で 21 ppm の鉛が溶出した。一方、pH を 7 に調整した土壌からの鉛の溶出量は 2.9 ppm、pH 9 の土壌からは検出されなかった。逐次抽出法の結果、交換態鉛の濃度は、pH5 の土壌で 95-202 mg/kg であるのに対して、pH7 以上の土壌では 2.1-3.6 mg/kg に減少することが確認された。

土壌中の DNA を抽出し、この DNA 中の真正細

菌の 16S rDNA を標的とし、DGGE 法を用いて土壌中の細菌叢の群集構造を明らかにした。細菌叢の変化は土壌の pH に依存し、鉛弾の風化レベルの違いによる影響は認められなかった。土壌 pH を 7~7.5 程度にすることで植物の地上部に吸収される鉛の濃度が減少し、植物体の成長が促進される。それに伴い土壌細菌叢も増加し、土壌細菌の生態系が改善することが示唆された。

各研究内容の詳細については、雑誌論文および学会発表を参照されたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Hashimoto, Y., Takaoka, M., and Shiota, K. 2011. Enhanced transformation of lead speciation in rhizosphere soils using phosphorus amendments and phytostabilization: XAFS spectroscopy investigation. *Journal of Environmental Quality*. (in press) (査読あり).
2. Hashimoto, Y., Yamaguchi, N., Takaoka, M., and Shiota, K. 2011. EXAFS speciation and phytoavailability of Pb in a contaminated soil amended with compost and gypsum. *Science of the Total Environment*. 409:1001-1007 (査読あり).
3. Hashimoto, Y., Tajima, K., Yamada, H., and Sato, T. 2010. Rhizosphere bacterial community PCR-DGGE profiles and metal speciation in shooting range soils. *Proceedings in 19th World Congress of Soil Science*. Brisbane, Australia. Aug. 1-6. CDROM (査読あり).
4. Hashimoto, Y., Takaoka, M., Oshita, K., and Tanida, H. 2009. Incomplete transformations of Pb to pyromorphite by phosphate-induced immobilization investigated by X-ray absorption fine structure (XAFS) spectroscopy. *Chemosphere*. 76:616-622. (査読あり)

[学会発表] (計 8 件)

1. 橋本洋平. 2010. 化学形態解析を基盤とする土壌有害金属処理に関する研究, 第 28 回日本土壌肥料学会 奨励賞受賞講演 (北海道大学, 9/10/2010)
2. Hashimoto, Y., Tajima, K., Yamada, H., and Sato, T. 2010. Rhizosphere bacterial community PCR-DGGE profiles and metal speciation in shooting range soils. *Proceedings in 19th World Congress of Soil Science*. 219-222 (Aug. 1-6, Brisbane, Australia).

3. 佐脇由実, 船附淳志, 近藤誠, 橋本洋平. 2010. 不溶化ファイトレメディエーションのための鉛・アンチモンの化学形態分析. 第 19 回日本環境化学討論会(中部大学, 6/21-23).
4. 徳嵩由布子, 西田翔, 橋本洋平, 荻田修一. 2010. 不溶化ファイトレメディエーションによる汚染土壌の微生物生態系への影響評価. 第 19 回日本環境化学討論会(中部大学, 6/21-23).
5. Hashimoto, Y., Takaoka, M., Oshita, K., and Tanida, H. 2009. Enhanced immobilization of Pb by phosphorus amendment in rhizosphere soils investigated by thermodynamic modeling and XAFS spectroscopy. Soil Sci. Soc. Am. Abst. (11/1-5, Pittsburg, USA).
6. 橋本洋平, 2009. 分子環境土壌学: ナノスケールでの土壌重金属の化学形態と微生物毒性の評価, 農業農村工学会, 第 48 回土壌物理研究部会研究集会(明治大学生田キャンパス, 10/15)
7. 橋本洋平, 高岡昌輝, 大下和徹, 谷田肇. 2009. X線吸収分光法(XAFS)と熱力学平衡モデルによる根圏土壌の鉛形態の解明. 日本土壌肥料学会全国大会(京都大学, 9/15-17).
8. 橋本洋平, 山口紀子. 2009. X線吸収分光法(XAFS)による還元土壌の鉛・アンチモンの存在形態と植物吸収の関係解明. 第 18 回日本環境化学討論会(つくば市, 6/9-11).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 洋平 (Yohey Hashimoto)

三重大学・大学院生物資源学研究科・准教授
研究者番号: 80436899

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし