

Development of suitable hydroponics system for phytoremediation of arsenic contaminated water using an arsenic hyperaccumulator plant *Pteris vittata*

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2016-05-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 黄, 毅, 宮内, 啓介, 井上, 千弘, 遠藤, 銀朗 メールアドレス: 所属:
URL	https://tohoku-gakuin.repo.nii.ac.jp/records/588

ヒ素超蓄積植物を用いたヒ素汚染水浄化のための 水耕栽培システムの開発

Development of suitable hydroponics system for phytoremediation of arsenic contaminated water using an arsenic hyperaccumulator plant *Pteris vittata*

黄毅* 宮内啓介* 井上千弘** 遠藤銀朗*

Yi HUANG* Keisuke MIYAUCHI* Chihiro INOUE** Ginro ENDO*

Abstract: In this study, we found that high performance hydroponics of Arsenic-hyperaccumulator fern *Pteris vittata* is possible without any mechanical aeration system, if rhizomes of the ferns are kept over the water surface level. It was also found that very low nutrition condition is better for root elongation of *P. vittata* that is an important factor of the arsenic removal from contaminated water. By the non-aeration and low-nutrition hydroponics for four months, roots of *P. vittata* were elongated more than 500 mm. The result of arsenate phytofiltration experiments showed that arsenic concentrations in water declined from the initial concentrations (50 µg/L, 500 µg/L and 1000 µg/L) to lower than the detection limit (0.1 µg/L) and about 80% of arsenic removed was accumulated in the fern fronds. The improved hydroponics method for *P. vittata* developed in this study enables low cost phytoremediation of arsenic contaminated water and high-affinity removal of arsenic from water.

Keywords: arsenic removal, hydroponics, arsenic hyperaccumulator, *Pteris vittata*, phytoremediation

本論文の翻訳元

本論文は

Yi Huang, Keisuke Miyauchi, Chihiro Inoue, Ginro Endo: “Development of suitable hydroponics system for phytoremediation of arsenic contaminated water using an arsenic hyperaccumulator plant *Pteris vittata*”, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, in press を翻訳したものであり、併せて参照頂きたい。

1 研究の背景

飲料水と灌漑用水のヒ素汚染は世界中で多くの人々にとって深刻な問題となっている。ヒ素は皮膚がん、膀胱がん、前立腺がんのリスクを上昇させるため、バングラデシュ、インド西ベンガル州、インドシナ半島のメコンデルタ流域においては発がん性物質の中のクラス A に分類されている^[1]。また、ヒ素による深刻な健康被害は、世界保健機関 (WHO) が「人類史上でもっとも大規模な汚染中毒である」と述べるほどである^[2]。

ヒ素汚染水の浄化法としては、酸化金属顆粒を用いた吸着法、イオン交換法、凝集-ろ過法が知られている^[3]。酸化金属顆粒を用いた吸着法では、活性アルミナや酸化鉄で覆われた砂、水酸化鉄顆粒が用いられ、それらにヒ素を吸着させる^[4]。この方法のデメリットとしては高コストであることが挙げられる。

Phytofiltration は水の汚染を植物を用いて除去するという近年開発された手法である。1995 年、Dushenkov らはヒマワリやカラシナの苗を用いた水耕栽培システムを計画し、そのシステムは後にウランや鉛、セシウムを汚染水から除去するのに用いられた^{[5] [6]}。1997 年、Chandra らは水草の汚染水からの金属除去能を調べ、*Scirpus lacustris* と *Phragmites karka* にクロム除去能があることを示した^[7]。

ヒ素超蓄積植物を用いた phytofiltration は化学的除去法に比べて低コストであるため、生活用水や農業用水の井戸水が汚染されていたときのヒ素除去に利用することが可能である。特に発展途上国においては、phytofiltration は汚染物質を高蓄積することが可能な植物の水耕栽培と組み合わせることで実現可能となる。

phytofiltration は化学的除去法と比較したとき、高額な化学薬品を用いる必要がないという点が利点である。化学処理後のヒ素を吸着させた化合物と異

*東北学院大学

**東北大学環境科学研究科

なり、収穫した植物中のヒ素濃度が高くない場合は通常のゴミとして燃焼処理することが可能である。

モエジマシダ(*Pteris vitatta*) はヒ素除去に有効であり、土壌で栽培すると 1-2 kg dry biomass/m² とよく生育し、さらに乾燥重量 1kg あたり 22,000 mg のヒ素を羽片 (fronds, 地上部の葉) に蓄積することが明らかとなっている^[8]。モエジマシダを用いたヒ素汚染土壌の浄化は効果があり、広く利用されている^{[9][10][11]}。しかしながら、モエジマシダのヒ素汚染水処理への利用に関してはあまり知見がない。

モエジマシダの水耕栽培は基礎的な実験およびパイロットスケール実験のみが行われている^{[12][13][14]}。水耕栽培操作のコストがヒ素汚染水に対する phytofiltration のボトルネックになると考えられるため、低コストで水耕栽培を行うシステムを構築することが急がれる。陸生の植物を水耕栽培するためには酸素供給、光のコントロール、養分供給の3つが重要な要因となる。適切な光供給は土壌・水耕栽培ともに必要であるが、栄養源と酸素供給については検討する必要がある。1938 年から、Hoagland 培地が水耕栽培の標準培地となっており^[15]、栄養源を連続的に供給することが水耕栽培のときには不可欠となっている。水生植物の根による酸素の取り込み様式は陸生植物のものとは異なるため、連続的にエアレーションを行うことが水耕栽培には必須であると考えられてきた^[13]。

本研究では、ヒ素高蓄積植物であるモエジマシダの最適な水耕栽培条件法について報告する。本法は機械的なエアレーションを用いず、低栄養で栽培することでコストを低く押さえることができるため、本法を用いた phytofiltration がヒ素汚染水の浄化方法として有力なものになると考えられる。

2 材料と方法

本研究で用いたモエジマシダの苗は株式会社フジタから提供されたものである。モエジマシダの水耕栽培に最も適当な水位を調べるために、(1)羽片、根茎 (rhizomes)、根の一部を水上にさらした状態、(2) 羽片、根茎を水上にさらした状態、(3) 羽片のみを水上にさらした状態、の3種類の水耕栽培条件を準備した (図1)。3種類の条件全てでエアレーションは行わず、2 ml の 1/5 希釈 Hoagland 溶液 (8 mM of KNO₃; 4 mM Ca(NO₃)₂; 2 mM MgSO₄; 1 mM

NH₄H₂PO₄; 50 μM H₃BO₃; 9 mM MnSO₄; 1 μM ZnSO₄; 0.2 μM CuSO₄; 0.1 μM Na₂MoO₄; and 60 μM Fe(III)-EDTA) を週に一度、根茎に直接与えた。この栄養源の供給は植物の生長には必要でないかもしれないが、ヒ素除去の水耕栽培実験中の植物の生存の助けになると考えられる。人工気象器は 1 日 14 時間の 35 μmol m⁻² s⁻¹ の光照射、20°C に設定し、運転した。

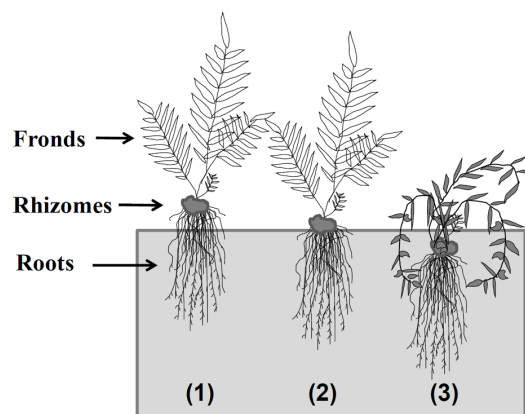


図1. モエジマシダ水耕栽培時の水位。(1)羽片、根茎、根の一部が水面の上にある条件、(2) 羽片と根茎が水面の上にある条件、(3)羽片のみが水面の上にある条件

モエジマシダを用いたヒ素汚染水に対する phytofiltration の効率を調べるため、2 種類の前培養モエジマシダを用いた。1 種類目は、2 ヶ月間ポット中の土壌で生育させた後、根を水道水で洗浄して付着している土壌を落とし、水耕栽培へと移したものである (シダ 1 とする)。もう 1 種類は苗を土壌栽培を減ることなく直接水耕栽培に移したものである (シダ 2 とする)。シダ 1 は 4 株ずつ水耕栽培用のタンク (縦 30 cm × 横 30 cm のタンクに 15 L の水道水を入れたもの) に植えた。また、シダ 2 は 16 株ずつ、同じ大きさのタンクに植えた。4 ヶ月の無曝気・低栄養条件水耕栽培によって根を 50 cm 以上に伸長させた (図 2 a, b)後に、ヒ素浄化実験をおこなった。上記のタンクを 3 つ接続し、水を循環させた (図 2 c)。実験時には、ネガティブコントロール (NC) もおいた。循環水の流速は 48 L/day とした (水の循環はエアレーションのためではなく、水耕栽培液を攪拌するためにおこなった)。初期条件として、ヒ酸ナトリウム (Wako Pure Chemical, Osaka, Japan) を蒸留水に加えてヒ酸濃度を 50 μg/L とした。ヒ素濃度が検出限界以下になったあと、ヒ酸濃度を 500 μg/L に、そしてさらに 1000 μg/L へと上昇させ

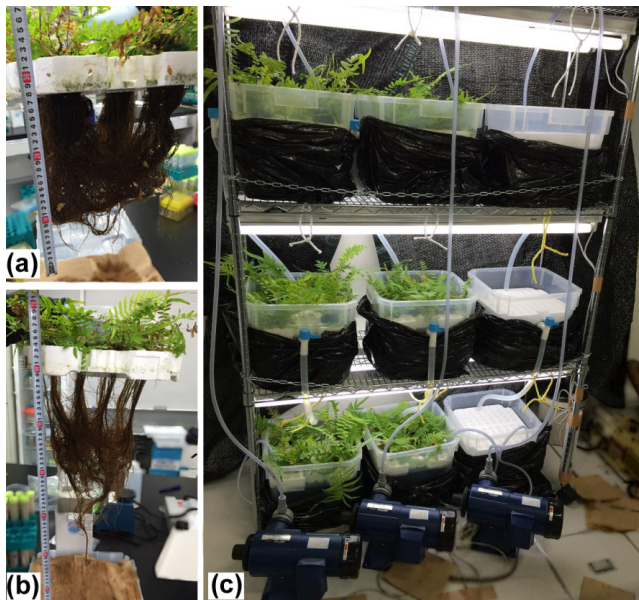


図2. 実験系の写真。(a)土壌栽培したシダの苗を4株タンクに植えて phytofiltration 実験をおこなった(シダ1)。(b)16株のシダの苗をタンクに植え、4ヶ月間培養したもの。これを phytofiltration 実験に用いた(シダ2)。(c)水を循環させた phytoremediation 実験システム。左から、シダ1を用いた実験、シダ2を用いた実験、シダなしのネガティブコントロール。それぞれの実験で独立したポンプを用いた。

た。水サンプルは毎日回収し、ヒ素濃度を測定した。

phytofiltration 実験終了後に植物を回収し、羽片、根茎、根に分け、70℃で乾燥させた。100 mg の乾燥サンプルを 5ml の有害金属分析用の硝酸(Wako Pure Chemical)と混合し、130℃で2時間、アルミブロックを用いて加熱し、溶解した。

水サンプルと溶解した植物サンプルのヒ素濃度は、誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)(ELAN 9000, Perkin Elmer, SCIEX)を用いて分析した。ヒ素の標準溶液は3%硝酸を用いて調整し、キャリブレーションに用いた。ヒ素の定量のために、イットリウムを終濃度 10 $\mu\text{g/kg}$ 3%硝酸に調整したものを、ヒ素定量のための内部標準として用いた^[14]。本文と図中の数値は平均 $\pm$ SE(標準誤差)で表している。有意性の有無はANOVA解析で確認し、実験回数およびサンプル数は図の説明に記述した。

3 結果と考察

本研究で得られた結果から、ヒ素高蓄積植物であるモエジマシダは根茎が水面より上にあれば、曝気なし及び低栄養条件下で水耕栽培可能であることが明らかとなった(図3)。図3で示す通り、根と

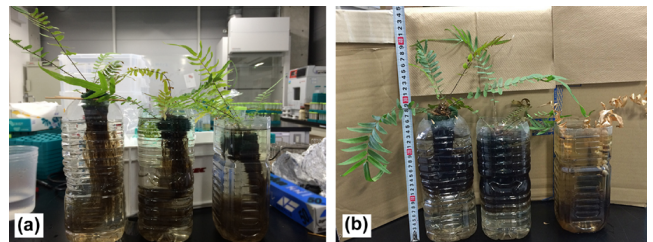


図3. 3種類の異なる条件で水耕栽培したモエジマシダの生育状態。左から、羽片と根茎と根の一部が水面より上、羽片と根茎が水面より上、根茎と根が水面より下。全ての条件で無曝気、低栄養で生育させた。(a)スタート時 (b)3週間後

根茎が水面下におかれたシダは枯れてしまった。しかしながら、根茎が水面より上にある場合は枯れることはなかった。

ヒ素除去試験の前段階におけるモエジマシダ前培養の方法を2種類試した。最初の方法は、シダの苗を2ヶ月間土壌で栽培し、水耕栽培に移行したもの(シダ1)、もう一つは、苗を直接水耕栽培に移行したもの(シダ2)である。4ヶ月間の無曝気水耕栽培で、根の長さは50cmを超えた(図1a, b)。根のバイオマスを測るために乾燥重量を測定したところ、シダ1とシダ2の根のバイオマスは、それぞれ羽片の2.25倍と1.2倍であった(図4a) ($p<0.05$)。ヒ素濃度と蓄積量はシダの部位(羽片、根茎、根)によって異なっていた。シダ1とシダ2の両方とも、羽片のヒ素濃度は非常に高く、その濃度は根茎の10倍、根の100倍であった。シダ2の羽片のヒ素濃度はシダ1のそれよりも高かった($p<0.05$) (図4b)。シダ2がタンク当たり16株を栽培するのに対し、シダ1はタンク辺り4株の栽培のため、植物バイオマスとヒ素濃度の標準誤差がシダ1では少し大きくなっている。

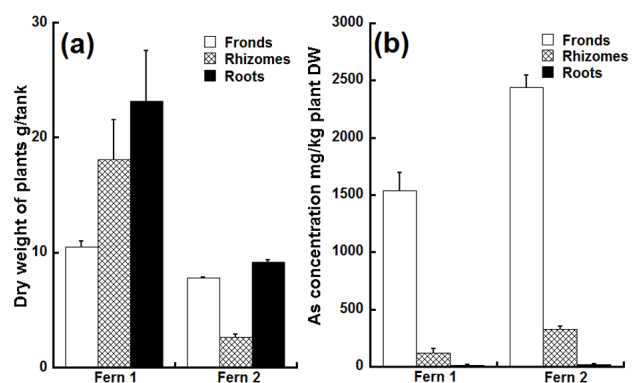


図4. 水耕栽培終了時のモエジマシダ(シダ1とシダ2)の羽片、根茎、根のバイオマスとヒ素含有量。(a)バイオマスの乾燥重量と(b)ヒ素含有量。n=3

2年間無曝気での栽培を続けた結果、根は1mにまで伸長した。これらの結果から、モエジマシダの生育と根の伸長は、羽片と根茎が水面より上に出ていれば、無曝気条件でも影響を受けないことが明らかとなった。

無曝気・低栄養でのモエジマシダの水耕栽培システムのヒ素除去能を、初期ヒ素濃度 50、500、1000 $\mu\text{g/L}$ で調べた。初期ヒ素濃度を 50 $\mu\text{g/L}$ にしたとき、シダ 1、シダ 2 どちらの場合も、水中のヒ素濃度は 24 時間以内に 10 $\mu\text{g/L}$ 以下になり、5 日で検出限界 (0.1 $\mu\text{g/L}$) 以下になった(図 5 a)。同じシダを用いて初期濃度を 500 $\mu\text{g/L}$ にした場合、シダ 1 とシダ 2 を用いたときの水中のヒ素濃度はそれぞれ 4 日と 6 日で 10 $\mu\text{g/L}$ 以下になった(図 5 b)。初期濃度を 1000 $\mu\text{g/L}$ にした場合、シダ 1 とシダ 2 を用いたときの水中のヒ素濃度はそれぞれ 8 日と 10 日で 10 $\mu\text{g/L}$ 以下になった(図 5 c)。水耕栽培実験の後、植物体を回収し、培養液と植物体間のマスバランスを分析した。培養液から除去されたヒ素濃度と植物体内に蓄積したヒ素の量は、シダ 1 とシダ 2 の間で大きな違いは見られなかった($p < 0.05$) (表 1)。栽培水中のヒ素濃度は最終的には検出限界 (0.1 $\mu\text{g/L}$) 以下になった。この結果より、モエジマシダは無曝気・低栄養条件下でヒ素に高いアフィニティを示し、ヒ素を取り込むことが示された。

さらに、植物の主要な栄養源であるリン酸の存在は、モエジマシダのヒ酸の取り込みとヒ素の蓄積を阻害することが知られている^[16]ため、栄養源の供給を必要としないこの方法は、井戸水等からのヒ素除去を行う際に有利である。の利点となる。水耕栽培前後の栽培水の全有機炭素 (total organic carbon、TOC) を測定したところ、TOC の上昇は見られず、むしろ若干低下していた (データは示さない)。これはおそらく水耕栽培中の、シダとその根圏に存在する微生物による自浄作用の結果であると考えられる。

これらの結果より、これまで用いられてきた水耕栽培と本研究の無曝気・低栄養条件下の水耕栽培では、モエジマシダのヒ素除去能に大きな違いはないことが示された。モエジマシダは根茎が水面より上に出ていれば、無曝気であっても生育可能であった。低栄養条件下で生育させることでシダの根が伸長し、その結果、ヒ素との親和性を上昇させることが可能であった。この水耕栽培法を用いることで、モエジマシダを用いた低コストのヒ素汚染水除去システムの開発が可能になると期待される。

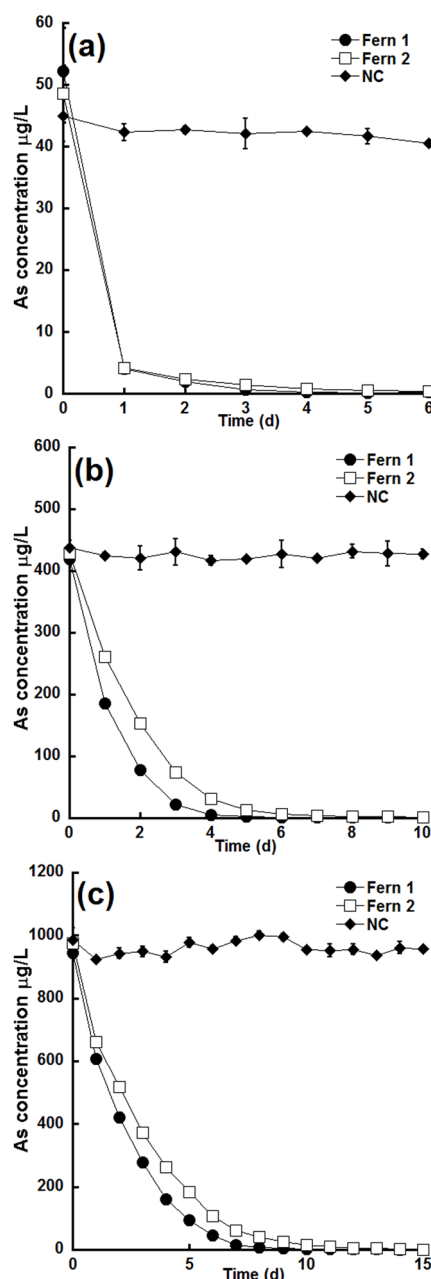


図 5. ヒ素汚染浄化実験における時間ごとのヒ素除去量. (a) ヒ酸濃度 50 $\mu\text{g/L}$ で開始した実験の結果、(b) (a)の実験でヒ素濃度が検出限界以下になった後、ヒ酸濃度を 500 $\mu\text{g/L}$ にして開始した実験、(c) (b)の実験でヒ素濃度が検出限界以下になった後、ヒ酸濃度を 1000 $\mu\text{g/L}$ にして開始した実験

謝辞

本研究の一部は文部科学省科学技術研究費の助成を受けておこなわれた (No. 24404018)。また、研究の補助をして頂いた東北学院大学佐藤崇裕氏に感謝する。

表 1. モエジマシダ水耕栽培の実験開始時と終了時におけるヒ素の量のマスバランス (n=3)

	As Amount, mg/tank	Recovery, %
Initial As amount in water	21.6 ± 0.443	(Initial amount=100)
Final As amount in water (without fern)	21.1 ± 0.608	97.7 ± 2.81
Final As amount in water (with Fern 1)	0.003 ± 0.003	0.014 ± 0.013
Final total As amount in Fern 1	18.7 ± 2.89	86.6 ± 13.4
Final As amount in Fronds of Fern 1	16.2 ± 2.23	75.0 ± 10.3
Final As amount in Rhizomes of Fern 1	2.12 ± 0.687	9.81 ± 3.18
Final As amount in Roots of Fern 1	0.35 ± 0.066	1.62 ± 0.306
Final As amount in water (with Fern 2)	0.017 ± 0.002	0.079 ± 0.009
Final total As amount in Fern 2	20.1 ± 0.661	93.1 ± 3.06
Final As amount in Fronds of Fern 2	19.1 ± 0.689	88.4 ± 3.19
Final As amount in Rhizomes of Fern 2	0.87 ± 0.047	4.00 ± 0.218
Final As amount in Roots of Fern 2	0.19 ± 0.017	0.88 ± 0.08

参考文献

- [1] Chen M, Ma LQ, Harris WG.: “Arsenic Concentrations in Florida Surface Soils: Influence of Soil Type and Properties.”, Soil. Sci. Soc. Am. J., Vol. 66 (2002), 632-640.
- [2] Vaughan DJ.: “Arsenic.”, Elements., Vol. 2 (2006), 71-75.
- [3] Mathews S, Rathinasabapathi B, Ma LQ.: “Uptake and translocation of arsenite by *Pteris vittata* L.: effects of glycerol, antimonite and silver.”, Environ. Pollut., Vol. 159 (2011), 3490-3495.
- [4] Clifford AD, Ghurye LG.: “Metal-oxide adsorption, ion exchange, and coagulation-microfiltration for arsenic removal from water.” in J. Frankenberger, W.T.(ed.) Environmental Chemistry of Arsenic. Marcel Dekker, Inc., New York (2002), 217-245.
- [5] Dushenkov V, Kumar NPBA, Motto H, Raskin I.: “Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams Environ.”, Sci. Technol., Vol. 29 (1995), 1239-1245.
- [6] Dushenkov V, Vasudev D, Kapulnik Y, Gleba D, Fleisher D, Ting KC, Ensley B.: “Removal of Uranium from Water Using Terrestrial Plants.”, Environ. Sci. Technol., Vol. 31 (1997), 3468-3474.
- [7] Chandra P, Sinha S, Rai UN.: “Bioremediation of chromium from water and soil by vascular aquatic plants.” in Kruger, E.L., Anderson, T.A., Coats, J.R. (Eds.), Phytoremediation of Soil and Water Contaminants., American Chemical Society, Washington, DC. (1997), 274-282.
- [8] Ma LQ, Komar KM, Tu C, Zhang WH, Cai Y and Kennelley ED.: “A fern that hyperaccumulates arsenic.”, Nature, Vol. 409 (2001), 579-579.
- [9] Kertulis-Tartar GM, Ma LQ, Tu C and Chirenje T.: “Phytoremediation of an Arsenic-Contaminated Site Using *Pteris vittata* L. A Two-Year Study”. Int. J. Phytoremediat. Vol. 8 (2006), 311-322.
- [10] Ye WL, Khan MA, McGrath SP and Zhao FJ.: “Phytoremediation of arsenic contaminated paddy soils with *Pteris vittata* markedly reduces arsenic uptake by rice.”, Environ. Pollut., Vol. 159 (2011), 3739-3743.
- [11] Niazi NK, Singh B, Van Zwieten L and Kachenko AG.: “Phytoremediation of an arsenic-contaminated site using *Pteris vittata* L. and *Pityrogramma calomelanos* var. *austroamericana*: a long-term study.”, Environ. Sci. Pollut. Res., Vol. 19 (2012), 3506-3515.
- [12] Huang JW, Poynton CY, Kochian LV and Elless MP.: “Phytoremediation of arsenic from drinking water using arsenic-hyperaccumulating ferns.”, Environ. Sci. Technol., Vol. 38 (2004), 3412-3417.
- [13] Elless MP, Poynton CY, Willms CA, Doyle MP,

Lopez AC, Sokkary DA, Ferguson BW, Blaylock MJ.: “Pilot-scale demonstration of phytofiltration for treatment of arsenic in New Mexico drinking water.”, *Water Res.*, Vol. 39 (2005), 3863–3872.

[14] Huang Y, Hatayama M and Inoue C.: “Characterization of As efflux from the roots of As hyperaccumulator *Pteris vittata* L.”, *Planta*, Vol. 234 (2011), 1275–1284.

[15] Hoagland DR and Arnon DI.: “The water-culture method for growing plants without soil.”, *Bull. Calif. Agr. Exp. Stn.* Vol. 347 (1938), 36–39.

[16] Wu F, Wu S, Deng D, Wong MH.: “Effects of Phosphate on Arsenate Uptake and Translocation in Nonmetallicolous and Metallicolous Populations of *Pteris vittata* L. Under Solution Culture.”, *Int. J. Phytoremediation.*, Vol. 17 (2015), 841–846.