



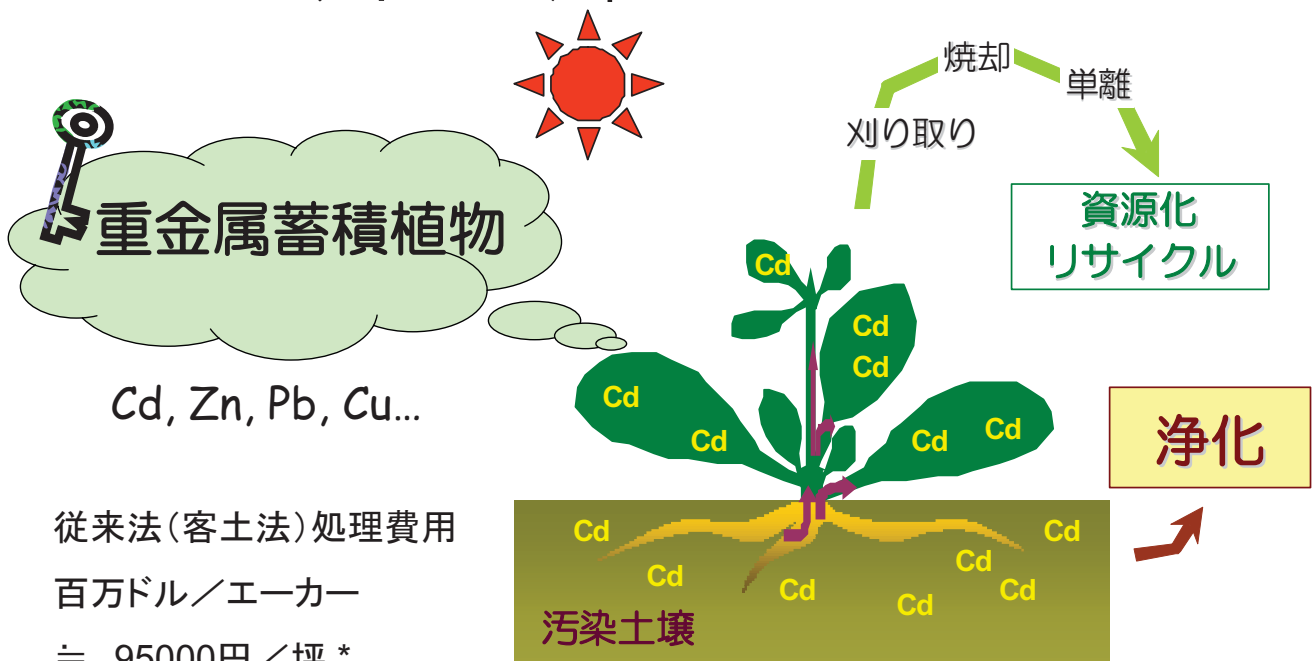
# 放射光X線分析による 重金属蓄積植物の研究

東京電機大学工学部環境化学科

保倉明子

## 植物を用いる重金属汚染土壌の浄化

～ ファイトレメディエーション ～



重金属蓄積植物

Cd, Zn, Pb, Cu...

従来法(客土法)処理費用  
百万ドル/エーカー  
≒ 95000円/坪\*

\* Phytoremediation of toxic metals, ed. by I. Raskin, B.D. Ensley, John Wiley & Sons, Inc. (2000).

低環境負荷・省エネルギー・低コスト

# ファイトレメディエーション

「低コスト」と「低環境負荷」がキーワード

高集積植物の利用が効率的

●ハクサンハタザオ:カドミウム



Cadmium Hyperaccumulator  
*Arabidopsis halleri* ssp. *gemmifera*  
(Matsum.) O'Kane & Al-Shehbaz

●モエジマシダ:ヒ素



Arsenic Hyperaccumulator  
*Pteris vittata* L.

## ファイトレメディエーションの適用例



提供 (株)フジタ

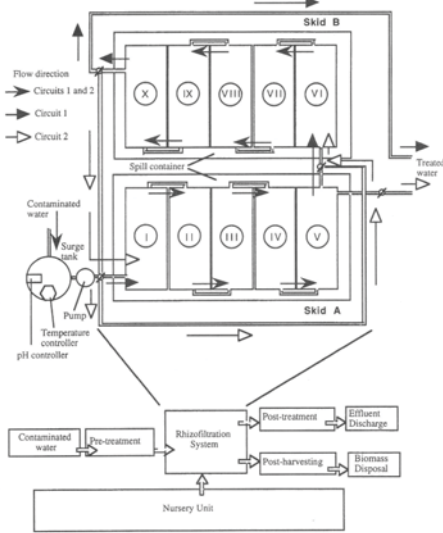
# 放射性核種のファイトレメディエーション

U, <sup>137</sup>Cs, <sup>90</sup>Sr, <sup>3</sup>Hなどの報告例

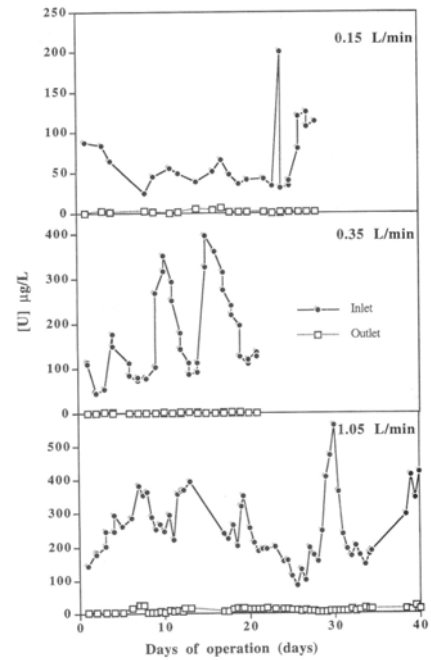
## ヒマワリを使ったUの除去試験(1997米国オハイオ州)

水中のUを植物を用いて除去.

ヒマワリ, 豆, カラシナで, 短時間(80時間)試験したところ, ヒマワリが最も効果的だった.



6週間栽培したヒマワリを用いて実験.  
2週間ごとに新しいヒマワリの苗と交換.  
pH, 温度, 流量を調整.

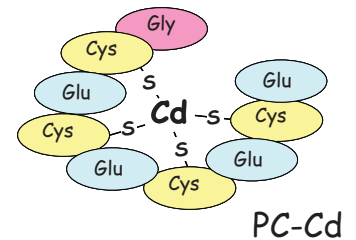


S. Dushenkov, et al.: *Environ. Sci. Technol.*, 1997.

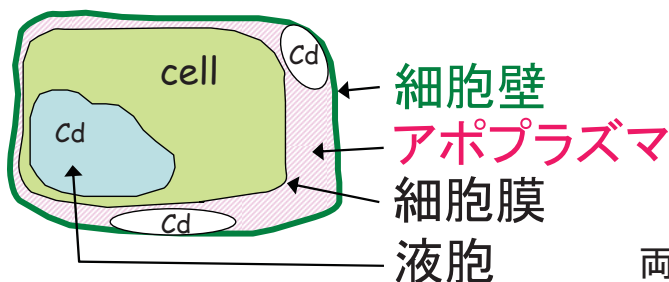
## 重金属に対する植物の耐性機構

➤ チオール基をもつシステインなど強い錯形成剤による無毒化.

ペプチド: グルタチオン, ファイトケラチン, メタロチオネイン.



➤ 特殊な組織や細胞内における細胞内区画化



化学形態

元素分布

両方の情報を得るためには?

放射光マイクロビーム蛍光X線分析

# 放射光とは・・・

ほぼ光速で直進する電子が、磁場で曲げられたときに発生する電磁波(シンクロトロン放射光)のこと

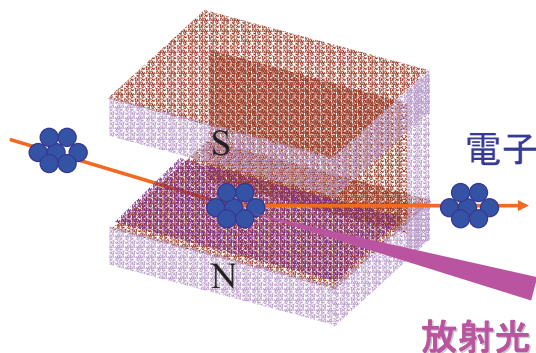
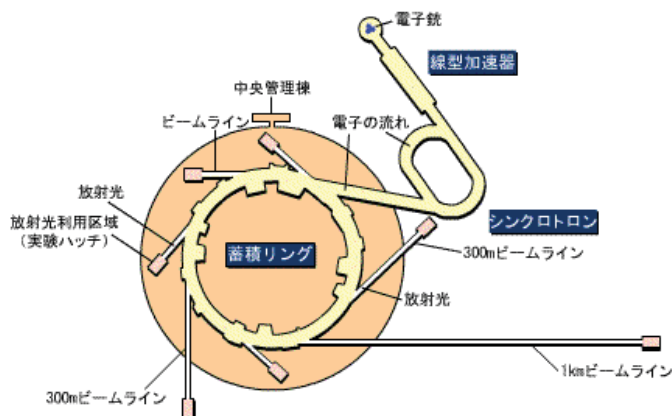


図1 放射光発生 の原理



蓄積リングに入射され、長時間周回軌道を保ち蓄積

## 放射光の特徴

極めて明るい	細く絞られ広がらない (指向性が高い)	赤外線から硬X線までの 広い波長領域を含む	偏向している	短いパルス光の 繰り返し
放射光 太陽光の 100億倍 太陽光	放射光 細く絞られている 懐中電灯の光 (例) 広がっている	赤外線 波長: 長 硬X線 波長: 短	自然光 さまざまな方向に 振動している光 放射光 振動方向が 規則的な光	繰り返し ※パルス光: 一瞬しか 光らない光のこと

- ① **高強度、高い光子フラックス**  
⇒ 微小、微細や希薄な試料からも十分な信号を得られる  
観測時間が短縮できる
- ② **高い指向性、平行性**をもつ  
⇒ マイクロビームの発生が容易  
微小な試料の測定、イメージング測定が可能
- ③ 赤外線から硬X線までの**幅広いエネルギー領域**をもつ  
⇒ 特定元素の選択励起、化学状態分析(XAFS測定)
- ④ **任意の偏光**をとりだせる  
⇒ スピンなどの偏光に関する情報を用いた電子機構研究に有効  
バックグラウンドの減少
- ⑤ **パルス特性**をもつ  
⇒ 時間分解実験

# 放射光の歴史

放射光そのものは1947年にアメリカのある会社の加速器、電子シンクロトロンで初めて観測

## 放射光施設 ~放射光施設の分類には**第何世代**という用語を用いる~

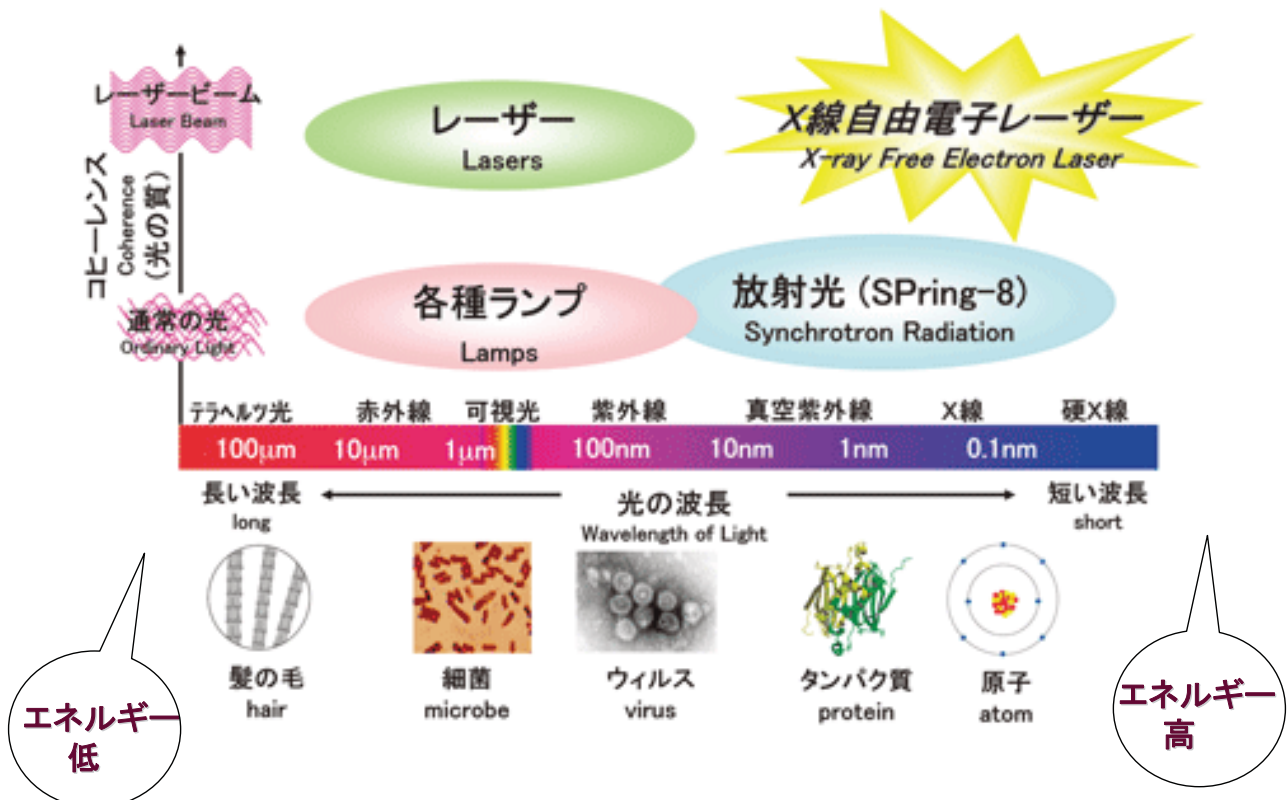
**第一世代**: 高エネルギー実験用に建設された加速器で発生してしまう(借り物の装置)放射光を寄生して利用する施設(借り物の装置)

**第二世代**: 放射光を利用する目的で建設された蓄積リングをもつ施設(専用の装置で大きく発展) 例 Photon Factory

**第三世代**: アンジュレータ光源を想定して建設された施設(新しい技術で大型施設) 例 SPring-8, ESRF, APS

**第四世代**: レーザーのように増幅作用を介して大強度放射光を発生する装置(H24.3から供用開始!) 現在, 開発中  
例 X線自由電子レーザー(SACLA)、エネルギー回収型ライナック(ERL)

## 光の波長と物質の大きさ



# 世界の放射光施設



## 第三世代の大型放射光施設

施設名称	SPring-8	APS Advanced Photon Source	ESRF European Synchrotron Radiation Facility
			
設置者 設置場所	原研・理研 播磨科学公園都市	米国エネルギー省 アルゴンヌ(米)	ヨーロッパ18カ国 グルノーブル(仏)
エネルギー ビームライン 周長	8 GeV 62本 1436 m	7 GeV 68本 1104 m	6 GeV 56本 844 m
年次計画	準備 建設 利用	準備 建設 利用	準備 建設 利用
	1987~1989 1991~1997 1997~	1986~1988 1989~1994 1996~	1986~1987 1988~1994 1994~

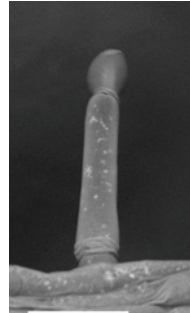
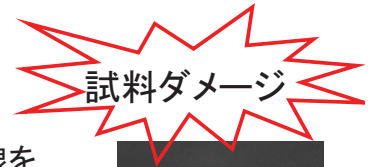
# 放射光を使う利点

例えば植物試料では・・・

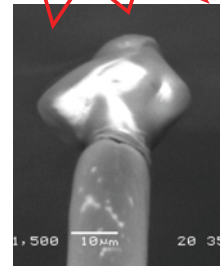
## 従来法

SEM-EDS、原子吸光法、ICP-MS、AESなど

- ・化学的な処理により生きたままの状態が保てない
- ・空間分解能が悪い
- ・電子線による試料ダメージ



電子線を  
当て続けると



## 放射光

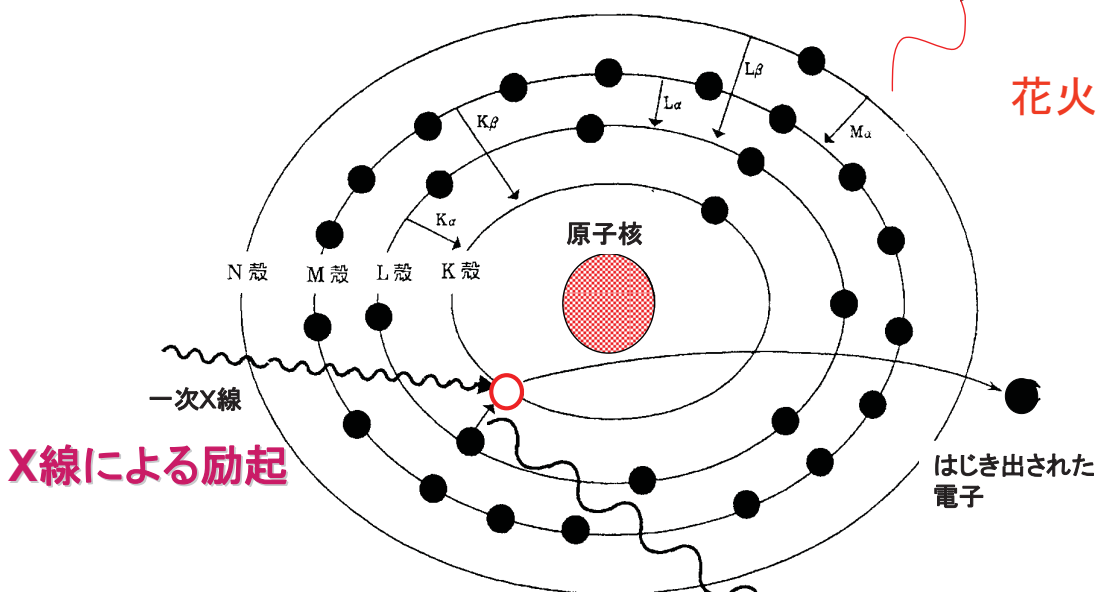
- ・細胞レベルの空間分解能
- ・組織構造を壊さず分析可能
- ・多元素同時分析が可能
- ・微量元素も分析可能
- ・高エネルギー蛍光X線分析可能 (SPring-8)

タバコの葉表面の毛状突起組織  
(トライコーム)

## 蛍光X線の発生原理

熱による励起

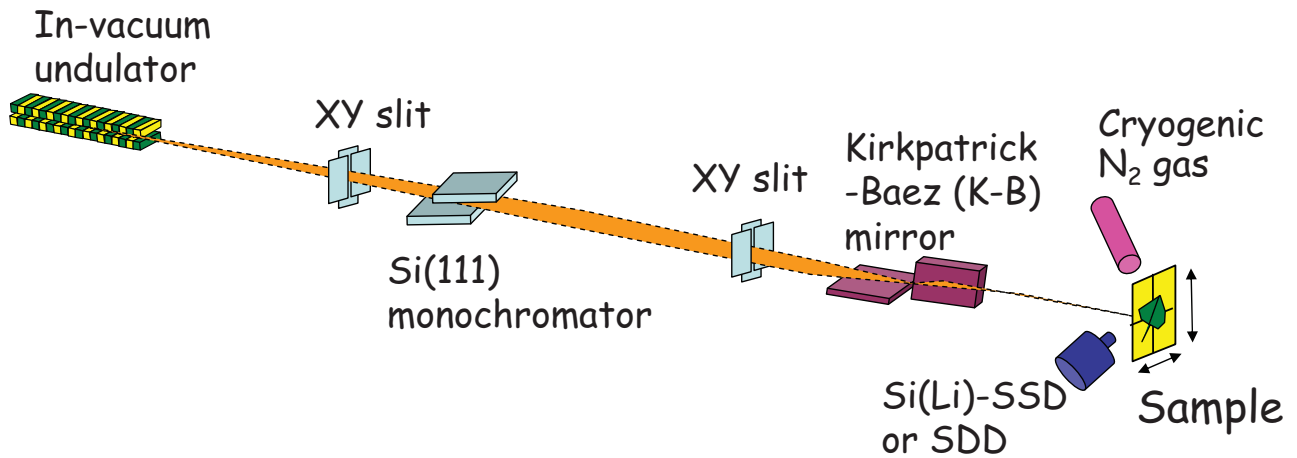
花火の光



物質にX線をあてると元素に固有のエネルギーの蛍光X線が発生する。

X線(蛍光X線)の発生

# $\mu$ -XRFイメージング & $\mu$ -XANESシステム



## SR facility: BL37XU, SPring-8 (undulator)

The flux of the photons: ca.  $10^8$ - $10^9$  photon s<sup>-1</sup> at 37 keV.

Focusing optics: K-B mirror (fused silica coated with Pt)

Focal length: 250 mm, 100 mm, Average glancing angle: 0.8 mrad.

Monochromator stabilization (MOSTAB) system

Beam size: ca. 1  $\mu$ m x 1  $\mu$ m with K-B mirror

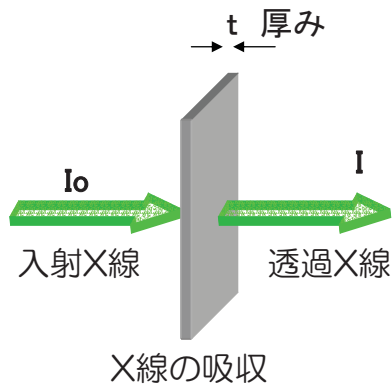
## ハクサンハタザオのin vivo XRFイメージング



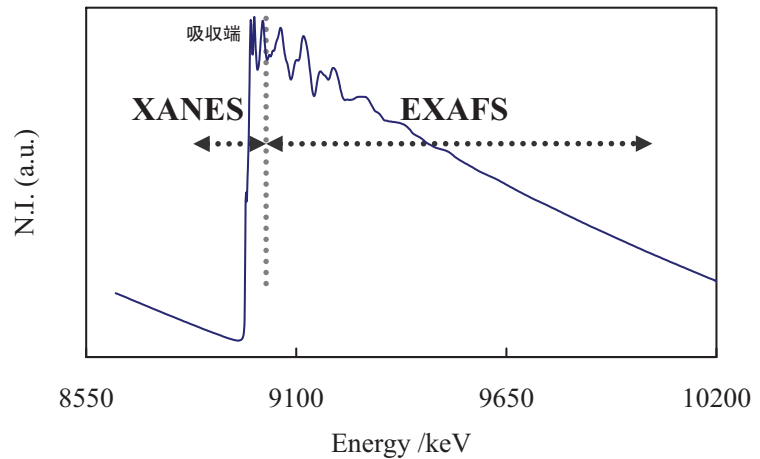
ビームサイズ 50  $\mu$ m x 50  $\mu$ m



# X線吸収微細構造(XAFS)解析



例) CuOのCu K-XAFSスペクトル



吸光度

$$A = \ln(I_0/I) = \mu t$$

## スペクトルから得られる情報

XANES:

内殻準位から空いた軌道,バンドへの遷移に対応.

EXAFS:

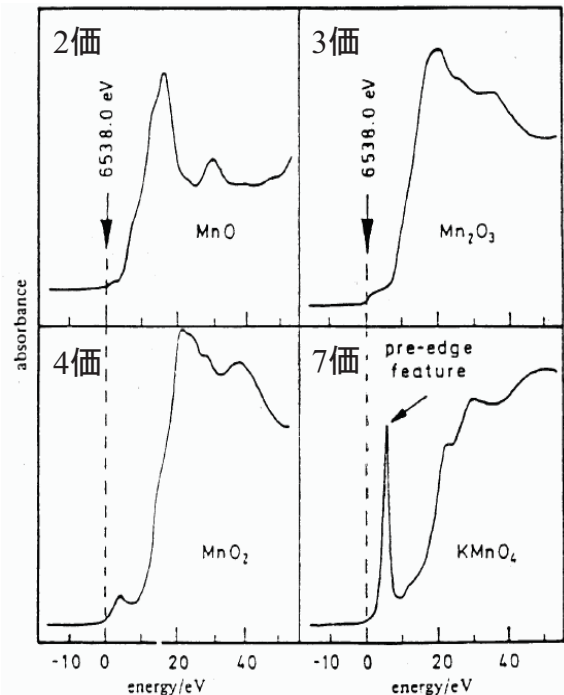
X線によって飛び出す電子と、周囲の原子によって散乱される電子との干渉効果によって起こされる現象.

## XANES解析例

### Mnの酸化数が2、3、4、7価である試料のXANESスペクトル

酸化数が大きくなるにつれて吸収の立ち上がりが高エネルギー側にシフト

KMnO<sub>4</sub>スペクトルの吸収端より低エネルギー側にpre-edgeピークがある  
→MnO<sub>4</sub>錯体が四面体配置をとるときに特徴的ピーク  
→錯体の対称性を判断できる



測定例としては、乾電池や充電電池に用いられるマンガン酸化物のMnにおける充放電に伴う酸化数変化を追うために用いられている

種々の酸化数のマンガン錯体のXANESスペクトル

標準化合物を用いたフィッティングにより化合物の存在比を求められる

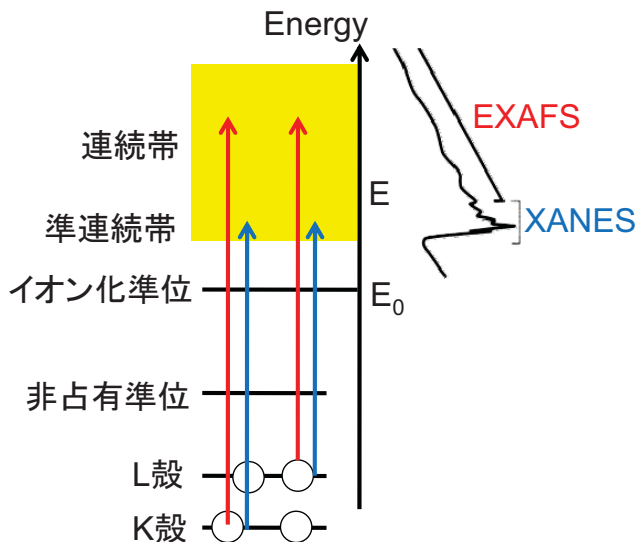
# EXAFS振動の起源

## 励起先

- 原子の外(連続帯)
- 光電子(光電子波)として放出



1原子では発散

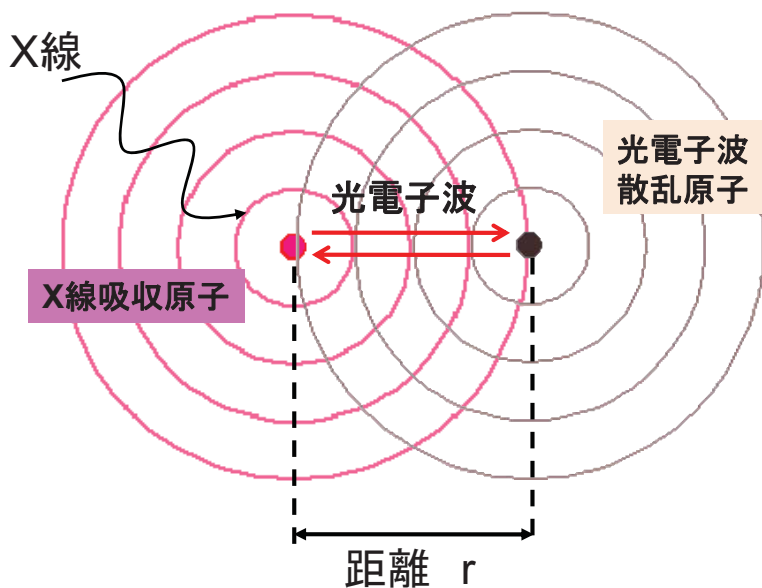


近接原子により散乱されて戻ってくる

➡ 波紋から岩の形と距離を解析出来る

# EXAFS

Extended X-ray Absorption Fine Structure



注目原子の吸収端に対応したエネルギーのX線を照射

特定の内殻電子を励起・脱離

四方八方に伝播し、  
近接原子により散乱

近接原子によって散乱された  
電子も同様に四方八方に伝播

後方散乱されて吸収原子に  
再度帰ってくる成分も存在



中心原子の周囲の原子の数やそこまでの距離を決定出来る

# 主に使用している放射光施設

## ◆ SPring-8(Super Photon ring -8 GeV)

8 GeV

BL37XU …  $\mu$ -XRF二次元イメージング( $\mu$ -XANES、 $\mu$ -XRD)

高エネルギー蛍光X線分析が可能



## ◆ PF(Photon Factory)

2.5 GeV

BL-12C … XAFS

BL-9A … XAFS

BL-4A …  $\mu$ -XRF二次元イメージング( $\mu$ -XANES、 $\mu$ -XRD)

## ◆ PF-AR

6.5 GeV

(Photon Factory-Advanced Ring  
for Pulse X-rays)

NW10A … XAFS



## イネ中のカドミウム分析

イネ用培地にカドミウム( $\text{CdSO}_4$ )を添加し、 $\text{HCl}$ を加えて $\text{pH}$ を4.7に調整した。人工気象室内、蛍光灯を用いて、11時間日長、昼温 $30^\circ\text{C}$ 、夜温 $25^\circ\text{C}$ (暗黒下)の条件下で栽培して、3ヵ月後に収穫した。

玄米を取り出し、カドミウムの定量を行なった。



表 栽培した玄米(イネ品種:日本晴)のCd濃度

試料名	培地のCd濃度/ ppm	玄米中のCd濃度/ ppm
コントロール	0	0.11
A	0.15	1.2
B	0.3	3.7
C	1.0	5.1

# ファイトレメディエーションに関する研究 イネがCdを吸収する様子を生きたまま可視化



## <sup>107</sup>Cdポジトロンイメージング

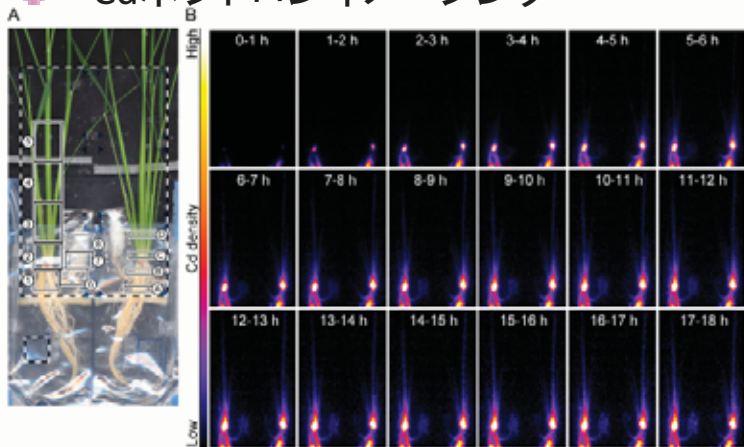
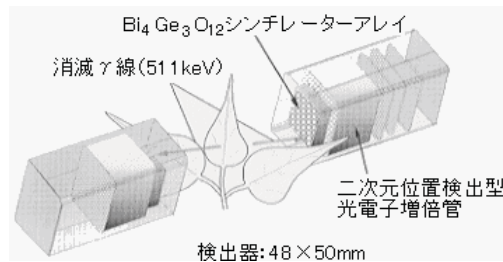


Fig.1 イネのポジトロンイメージング

ポジトロン(陽電子)を放出する放射性同位体<sup>107</sup>Cdを植物へ投与



ほぼリアルタイムでの計測可能  
空間分解能 2.4 mm

Cdを投与して20時間後も  
Cdは葉へ移行されず茎  
で留められていた

松橋信平: 原子力eye, 2006.  
S. Fujimaki, et al.: *Plant physiol.*, 2010.

## イネの茎における $\mu$ -XRFイメージング

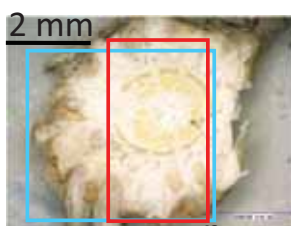


Fig. 茎の模式図

(m:大維管束,b:隔壁,r:辺周部維管束環)

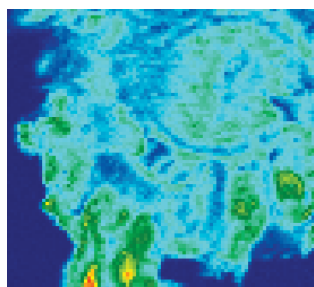
空間分解能 40 - 50  $\mu$ m

Imaging area:

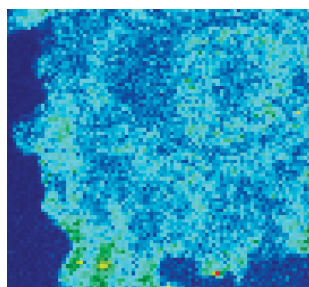
4.0 (V) mm  $\times$  4.4 (H) mm(必須元素) PF BL-4A

3.8 (V) mm  $\times$  2.56 (H) mm (Cd) SPring-8 BL37XU

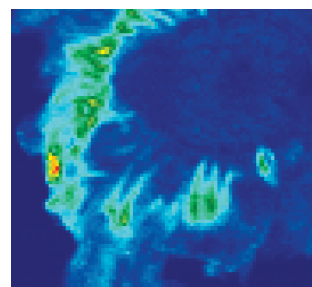
元素分布の  
相関を解析



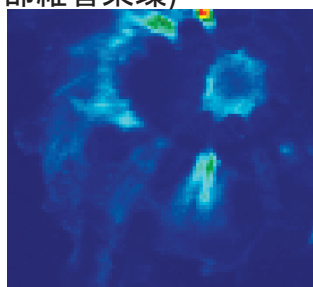
K



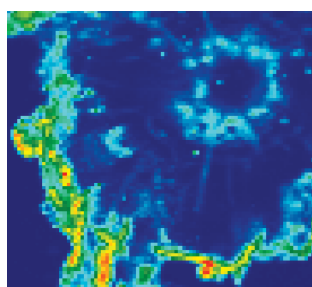
Ca K $\beta$



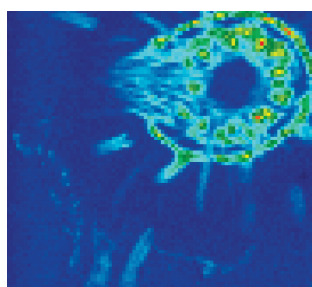
Mn



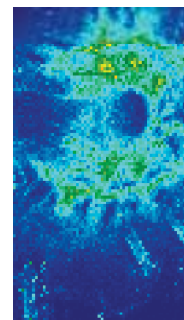
Zn



Fe



Cu



Cd

## 日本晴玄米

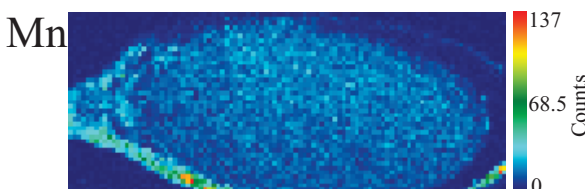
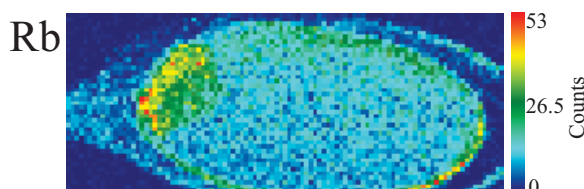
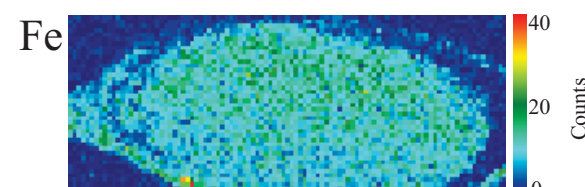
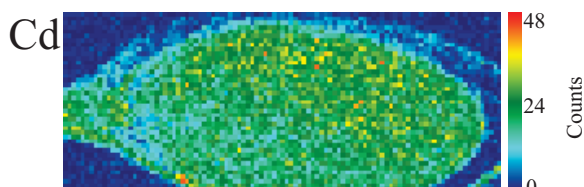
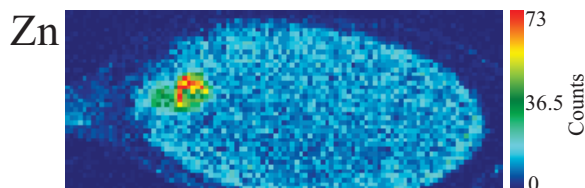
培養液中Cd濃度 1 ppm

玄米中Cd濃度 5 ppm

Beam size : 50  $\mu$ m  $\times$  50  $\mu$ m

Measurement points : 101  $\times$  41 points

Exposure time : 2 s/point



## 重金属超蓄積性のコケ

### 1. ホンモンジゴケ (*Scopelophila cataractae*)<sup>1)</sup>

- 乾燥質量あたり1~2%の銅を含む.
- SEM-EDSの結果, 銅は細胞壁に蓄積されていた.
- 酸性溶液で銅が容易に抽出される.



### 2. ヒョウタンゴケ (*Funaria hygrometrica*)<sup>2)</sup>

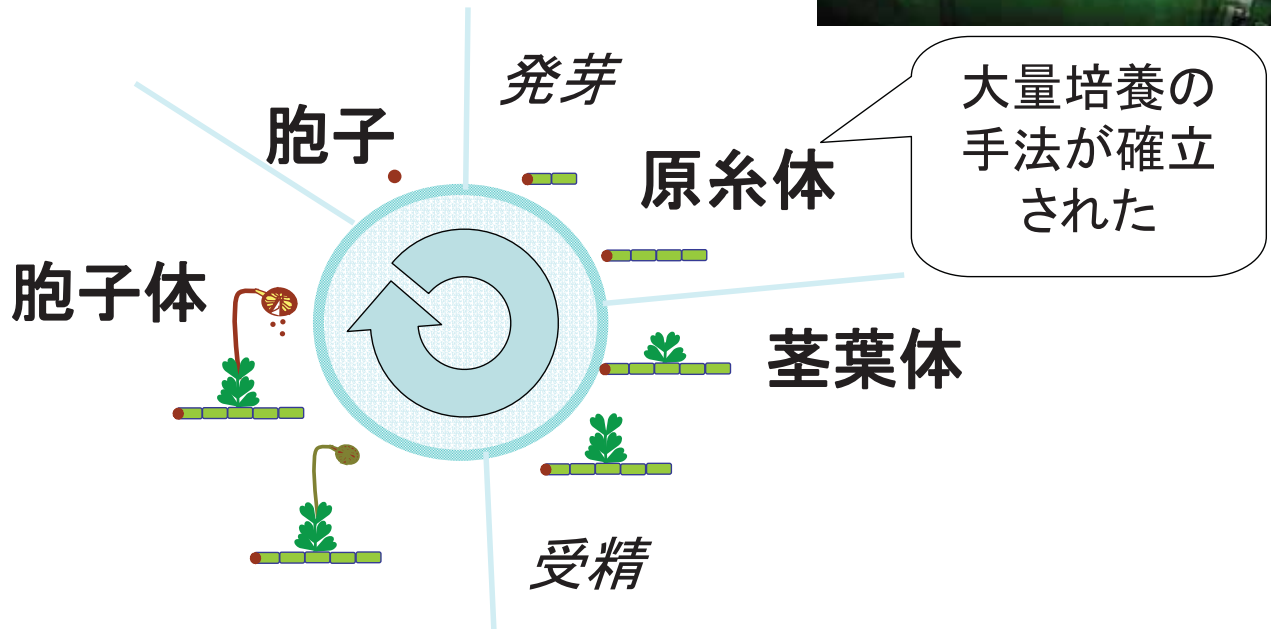
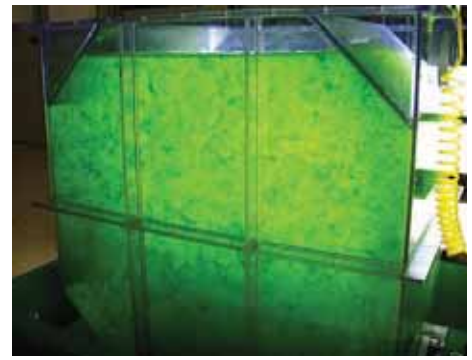
- 鉛を高濃度に蓄積していた.
- 廃水浄化技術への応用が期待される.
- 金を添加後, コケが赤に呈色した.



1) K. Satake, et al., *J. Bryol*, **15**, 353-376 (1988).

2) M. Itouga, et al., *Bryological Research*, **7**, 84-85 (1997).

# コケの生活環



## Samples

### • ホンモンジゴケ (*Scopelophila cataractae*)

野外で採取した茎葉体

(a) 水で洗浄 (control)

(b) 鉛を添加 (+ Pb)

(c) 酸洗浄でCuを取り除いた後, 鉛を添加 (- Cu, + Pb)



茎葉体

### • ヒョウタンゴケ (*Funaria hygrometrica*)

野外で採取した茎葉体

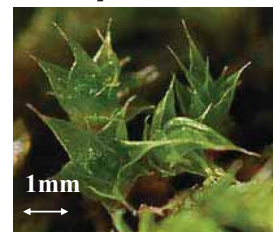
鉛または金を添加

原糸体

鉛または金を添加

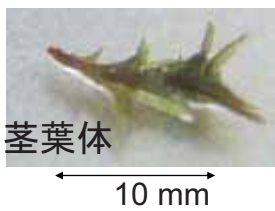


原糸体細胞



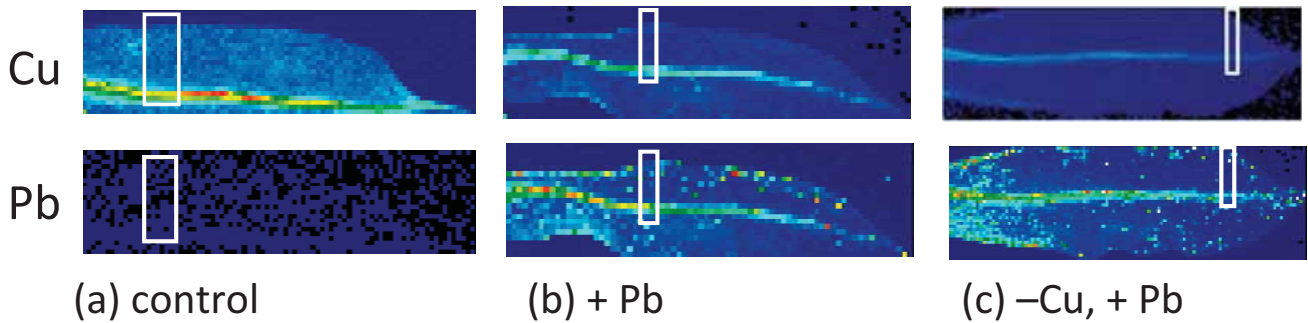
茎葉体

# ホンモンゾゴケ茎葉体の $\mu$ -XRFイメージング



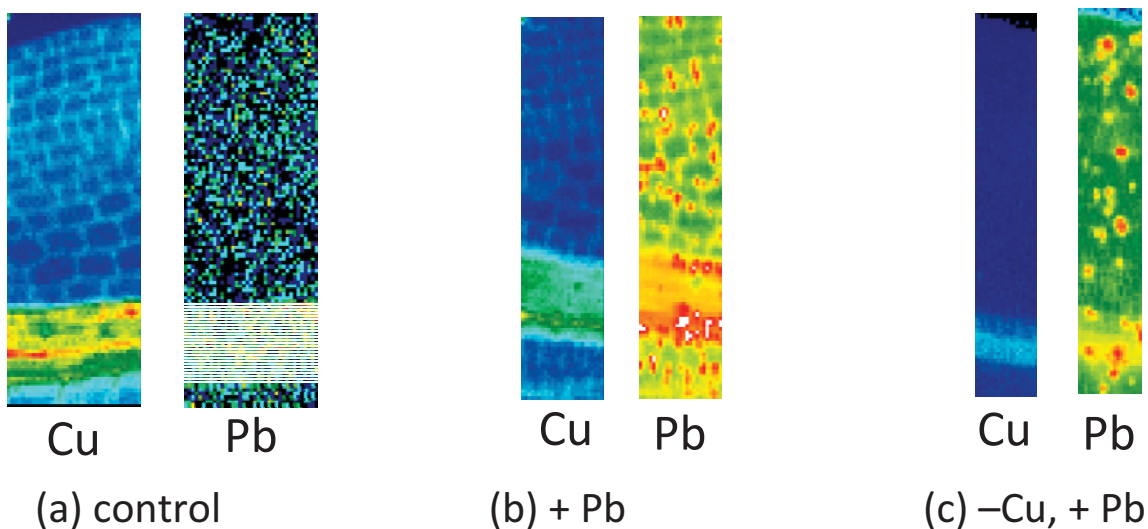
Low High  
XRF intensity

SR facility: BL-4A, Photon Factory, KEK  
Beam size: 3.5  $\mu$ m x 5.5  $\mu$ m  
Measurement time: 1 s/point



- Cuは野外から採取された茎葉体の葉に高濃度に蓄積されていた。
- Pbを添加したところ, Cuと同様に葉に蓄積された。
- 酸処理後, 大部分のCuは流出。  
少量のCuは葉の中肋に残っていた。

## 詳細な元素分布



- CuとPbが細胞壁に蓄積されている様子が明瞭に可視化された。
- 中肋においても高濃度に蓄積。

# 茎葉体断面の $\mu$ -XRFイメージング

X-ray energy: 10 keV

Measurement area

Control: 138  $\mu\text{m}$  x 246  $\mu\text{m}$

-Cu: 302  $\mu\text{m}$  x 392  $\mu\text{m}$

Measurement time:

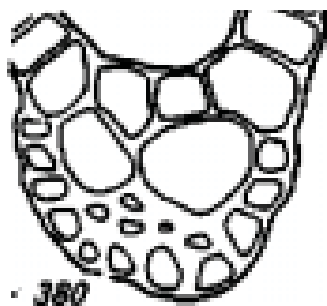
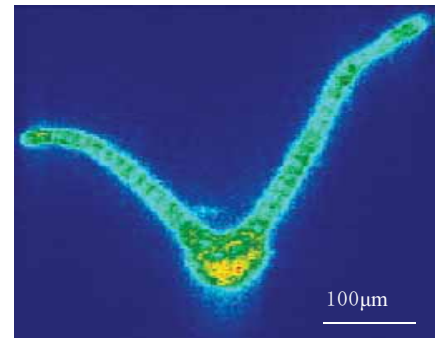
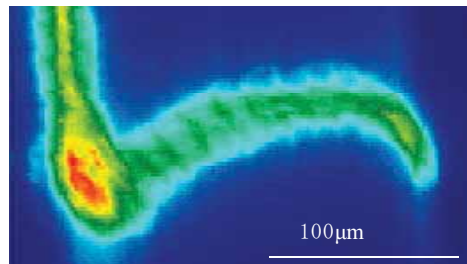
0.1 s/point

SPring-8 BL37XU

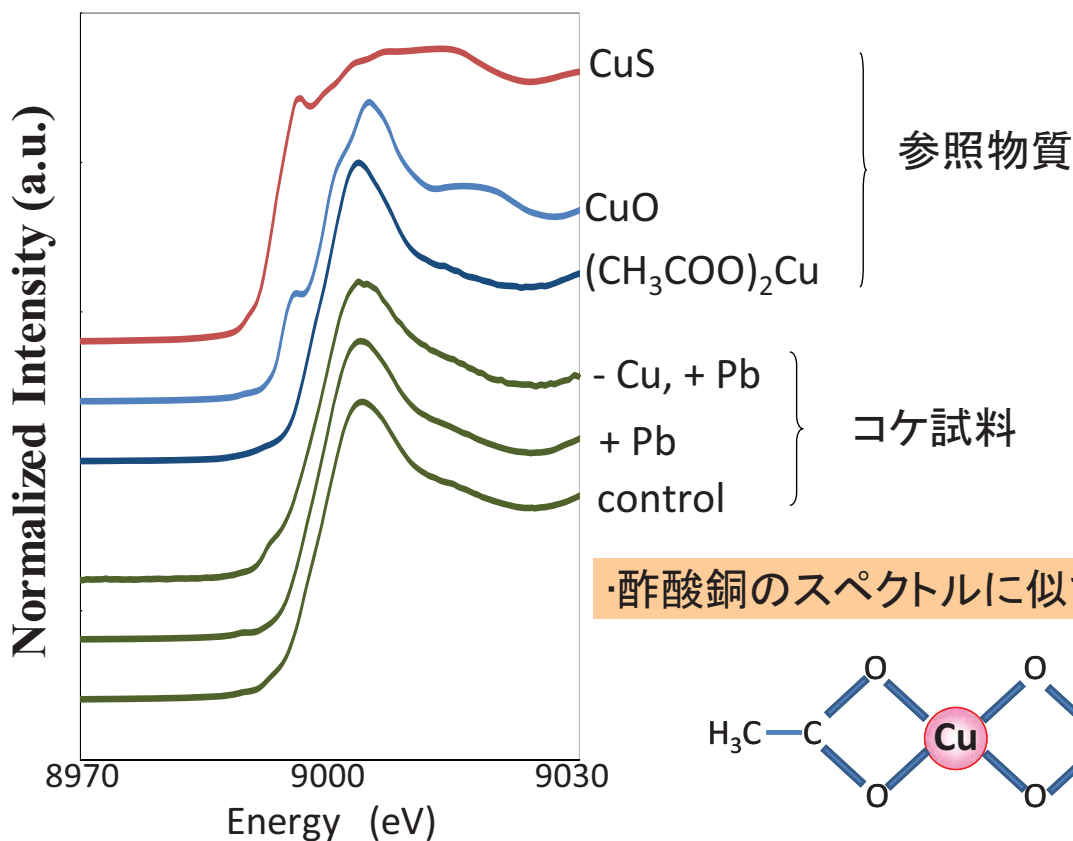
control



-Cu

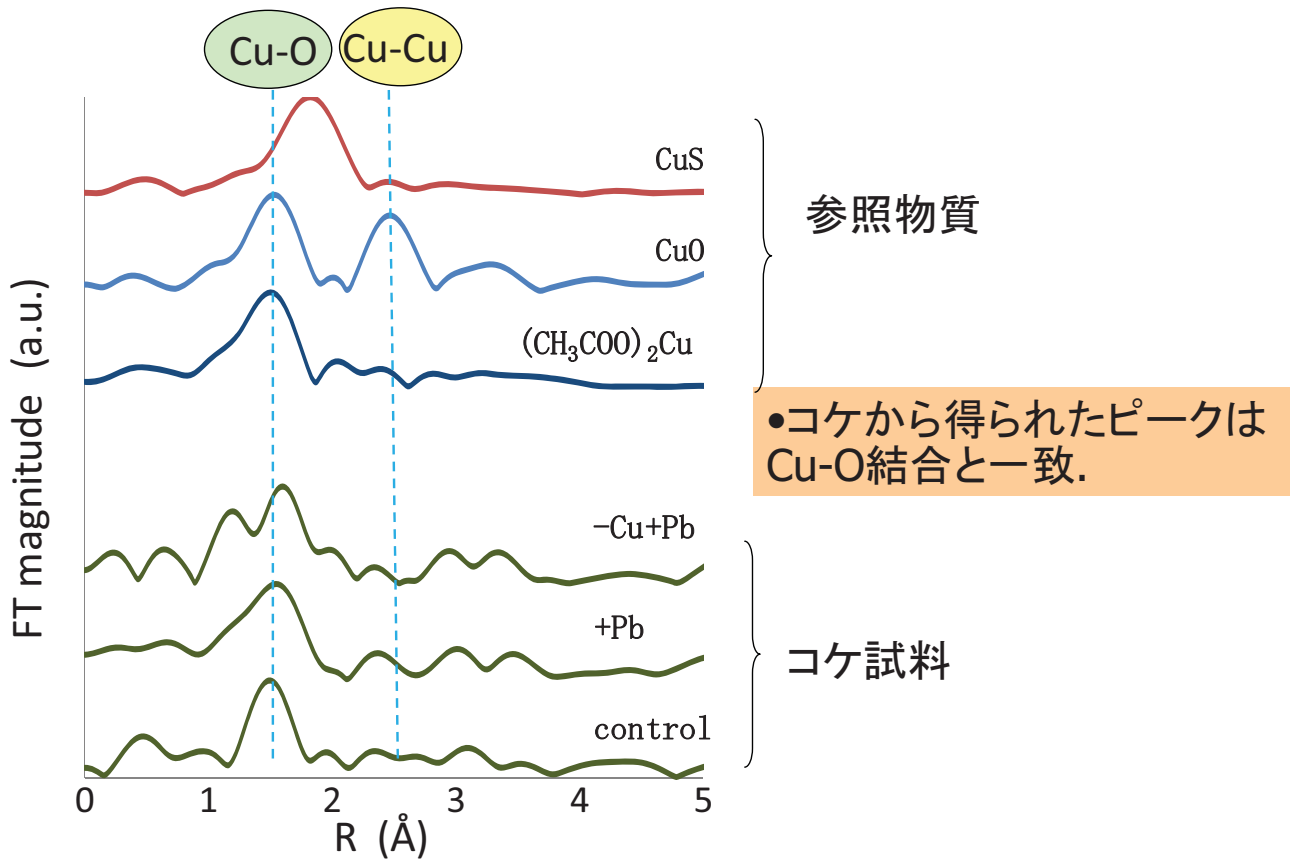


## 茎葉体のCu K-XANESスペクトル

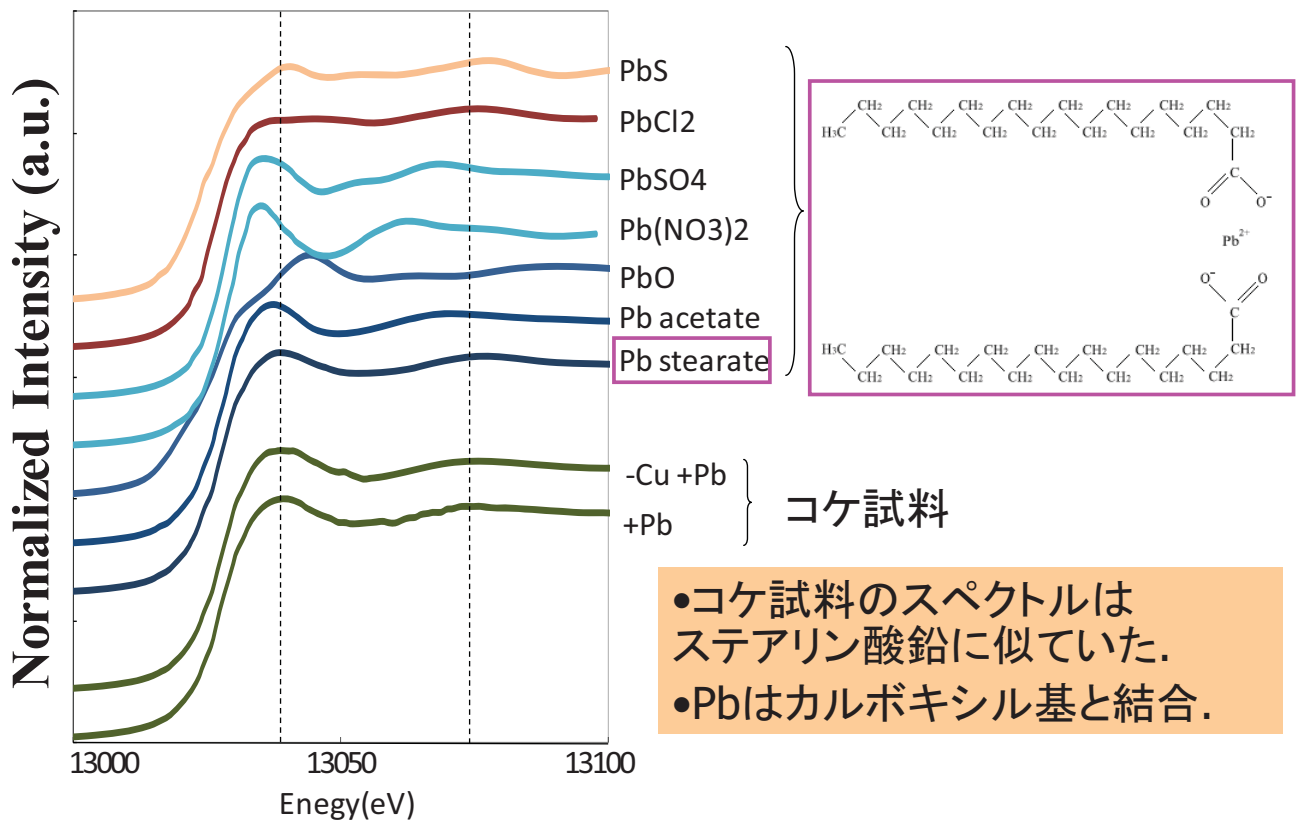




# Cu K-EXAFS解析から得られた動径構造関数



# 荖葉体のPb L<sub>3</sub>-XANESスペクトル



# 鉛や金を蓄積するヒョウタンゴケ



図1 ヒョウタンゴケ  
大牟田市の廃棄物処理場に繁殖していたヒョウタンゴケ（上）と、その原系体（下）。



ヒョウタンゴケに鉛を添加すると、高濃度に蓄積

金も高濃度に蓄積  
色が変わる(赤に呈色)

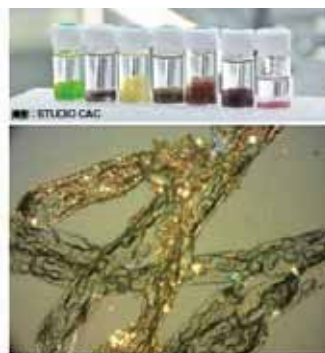


図2 金を高濃度で蓄積したヒョウタンゴケ（上）金を蓄積したヒョウタンゴケは、緑から赤に色が変わった（右側の密着）。（下）ヒョウタンゴケは、乾燥重量の11%という濃度で金を蓄積することが分かった。



## 蓄積機構が解明されると・・・

重金属を溜める植物の開発

→ 土壌や水環境の浄化

重金属を溜めない植物の開発

→ 安全・安心な農作物

## 植物から重金属を回収できると・・・

元素のリサイクル

元素資源の確保

都市鉱山の活用

## 放射光関連の参考図書

- ❁ シンクロトロン放射光 岩波講座 物理の世界  
上坪宏道 岩波書店
- ❁ 実用シンクロトロン放射光  
高良和武 日刊工業新聞社
- ❁ 放射光科学入門  
渡辺誠・佐藤繁 東北大学出版会
- ❁ X線吸収分光法 -XAFS とその応用-  
太田俊明編 アイピーシー
- ❁ 放射光で解き明かす驚異のナノ世界  
日本放射光学会編 講談社ブルーバックス
  
- ❁ <http://pfwww.kek.jp/indexj.html>
- ❁ <http://www.spring8.or.jp/ja/>

## 重金属蓄積植物に関する研究成果・解説

- Arsenic distribution and speciation in an arsenic hyperaccumulator fern by X-ray Spectrometry utilizing a synchrotron radiation source, *J. Anal. At. Spectrom.* **21**, 321 (2006), A. Hokura *et al.*
- Micro X-ray fluorescence imaging and micro X-ray absorption spectroscopy of cadmium hyper-accumulating plant, *Arabidopsis halleri* ssp. *gemmifera*, using high-energy synchrotron radiation, *J. Anal. At. Spectrom.* **23**, 1068 (2008), N. Fukuda, *et al.*
- In vivo micro X-ray analysis utilizing synchrotron radiation of the gametophytes of three arsenic accumulating ferns, *Pteris vittata* L., *Pteris cretica* L. and *Athyrium yokoscense*, in different growth stages: *Metallomics*, **2**, 261-270 (2010), T. Kashiwabara, *et al.*
- 放射光マイクロビーム蛍光X線分析とXAFS解析によるホンモンジゴケ (*Scopelophil acataractae*) 体内における銅と鉛の蓄積に関する研究: X線分析の進歩, **42**, 347-358 (2011), 吉井ら.
- 保倉明子: ぶんせき, **2009(9)**, 476-480 (2009).
- 保倉明子: 化学と工業, 化学と工業, **2009(11)**, 1185-1187 (2009).
- 保倉明子ら: 放射光, **23(2)**, 69-80 (2010).

# 謝辞

寺田靖子 (JASRI SPring-8)

北島信行 (フジタ)

阿部知子 (理研仁科研究センター)

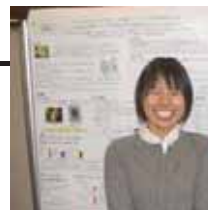
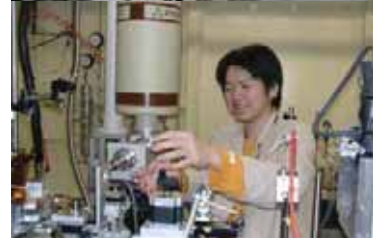
井藤賀操、榊原均 (理研PSC)

川上智 (DOWAエコシステム(株))

後藤文之、吉原利一 (電中研)

中井泉

小沼亮子、永山裕之、福田直樹、  
柏原輝彦、三尾咲紀子、  
高田沙織、山岡和希子、吉井雄一  
(東京理科大学理学部)



## ご清聴ありがとうございました

