

# 兵庫県多田銀山におけるヘビノネゴザ中の重金属分析

著者	北川 隆康
著者別表示	Kitagawa Takayasu
雑誌名	植物地理・分類研究
巻	53
号	2
ページ	161-165
発行年	2005-12-30
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/00049781">http://hdl.handle.net/2297/00049781</a>

## 北川隆康：兵庫県多田銀山におけるヘビノネゴザ中の重金属分析

〒666-0129 兵庫県川西市緑台 6-1-47

### Takayasu Kitagawa : Analysis of heavy metals in *Athyrium yokoscense* growing at Tada-Ginzan in Hyōgo Prefecture

Midoridai 6-1-47, Kawanishi City, Hyōgo 666-0129, Japan

#### Abstract

A fern *Athyrium yokoscense* grows gregariously at a district near the mine at Tada-Ginzan in Hyōgo Prefecture, where a now closed mining town was developed from ancient times. Being one of the indicator plants, this fern has tolerance to the heavy metals, such as lead, copper etc. A vein of ores containing copper and silver runs at the district. The metals in *A. yokoscense* were analyzed with the methods of atomic absorption spectrometry and X-ray fluorescence spectrometry. As was expected from the plant character, many heavy metals, mainly copper and iron, which are components of ores in the soil were detected. Silver was concomitantly determined at the ppm level in the fern. Silver which is not an essential heavy metal in plants was found in *A. yokoscense* but it was not detected in the fern *Dicranopteris linearis* growing at the same site. *Athyrium yokoscense* is characteristic as an indicator plant with a capability to accumulate heavy metals including silver.

**Key words**: accumulator plant, *Athyrium yokoscense*, heavy metal, indicator plant, silver.

シダ植物の一種であるヘビノネゴザ *Athyrium yokoscense* (Franch. et Sav.) H.Christ は、鉱山地帯など重金属を含む土壤に生育し、植物体内に多量の重金属を集積することが知られている (酒井他 1991)。また、ヘビノネゴザは、カナヤマシダとも呼ばれ、土壤中の金属を示唆し、鉱物資源探索にも有用であることから指標植物に挙げられている (岩槻 1992)。本浄 (1999) は重金属汚染地帯に生育するヘビノネゴザ中の重金属類を分析し、本植物の金属耐性の特異な性質を明らかにした。兵庫県川辺郡猪名川町銀山の多田銀山にも数多くのヘビノネゴザが生育している。多田銀山の歴史は古く、天平時代から銅の採掘が始まり、豊臣時代には銅、銀の生産において最も栄え、江戸時代を経て、昭和 49 年に閉山した。採掘された鉱石類 (斑銅鉱  $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ 、方鉛鉱  $\text{PbS}$ 、黄銅鉱  $\text{CuFeS}_2$ 、褐錫鉱  $\text{Cu}_8(\text{Fe}^{2+}, \text{Zn})\text{Fe}_2\text{Sn}_2\text{S}_{12}$ 、錫石  $\text{SnO}_2$ 、藍銅鉱  $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ 、青鉛鉱  $\text{PbCu}(\text{SO}_4)(\text{OH})_2$ 、孔雀石  $\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$ 、輝銀銅鉱  $\text{CuAgS}$  等) (多田銀山史跡保存顕彰会 2003) から、この地域に生育するヘビノネゴザは、銅、鉛等を取り込んでおりと予想され

た。また、多田銀山に生育するヘビノネゴザ中には重金属類に混じって本浄 (1990) の分析の中にはみられない銀が存在することも予想された。重金属の中でも必須元素類 (銅、亜鉛、マンガン、鉄等) に属さない銀 (茅野・小畑 1988) の取り込みの如何には興味が持たれることから、今回、多田銀山のヘビノネゴザの、銀を含む重金属分析を行った。

#### 材料及び方法

##### 1) 材料

多田銀山は多数の坑道 (間歩) が残存し、特にその周辺にはヘビノネゴザの群落が見られる。中でも群生の盛んな二ヶ所の間歩 (玄能間歩、瓢箪間歩) でヘビノネゴザの採集を行った。多田銀山の中で、ヘビノネゴザが群生している地域の境界 (採掘後の土石が堆積した丘陵地) に接するようにコシダ *Dicranopteris linearis* (Burm. f.) Underw. が群生している箇所があり (金浦間歩)、両植物の生育する土壤の組成はきわめて近いと考えられることから、比較のためにコシダも採集した。採集地、採集部位、採集量、採集日を Table 1 に示す。

Table 1. Ferns and their materials studied

	Ferns		
	<i>Athyrium yokoscense</i>	<i>Athyrium yokoscense</i>	<i>Dicranopteris linearis</i>
Sampling place	Old mine, Gennō Mabu	Old mine, Hyōtan Mabu	Old mine, Kanaura Mabu
Part of plant	Leaf, and rhizome and root	Leaf (dead leaf), and rhizome and root	Leaf
Weight of dried sample	Leaf 300 g Rhizome and root 250 g	Leaf 270 g Rhizome and root 270 g	660 g
Sampling date	June 30, 2002	March 3, 2001	March 3, 2001

In Gennō Mabu samples were obtained by separating and collecting leaves, rhizomes and roots from stems of 25 plants. The samples collected in Hyōtan Mabu were obtained likewise but from 22 plants and some leaves were added from other plants also.

## 2) 試料の前処理

①葉部（葉身及び葉柄）、根茎・根：試料を水洗、根茎・根と葉部を切り離し、それぞれ水分を拭き取り、1日放置後、秤量（実試料）。その後、日陰で3~4ヶ月間乾燥させた後、秤量（乾燥試料）。ついでステンレス板上で燃焼させ、残渣を集め、550℃で6時間熱灼、灰化して秤量（灰化試料）。

②土壌：採取した植物体の全体をバケツに入れ、洗浄。植物を取り出した後、底部に残る汚泥、砂を残し、上澄み液を捨てる。残渣のうち、汚泥は傾斜して捨て、水を加えて傾斜・洗浄を繰り返すとき、砂と岩石が残る。これを集め乾燥する。

方法1-残渣のうち大きい岩石は除き、細かい砂部分を集め、20メッシュの篩を通過した細粒を試料とした（玄能間歩）。

方法2-残渣のうち大きい岩石を破き碎片とし、砂部分に合わせ全体が均質な試料とした後、一部を取り、粉碎機（分析粉碎機 A-10 S 11 IKA-WERKE GMBH & CO. KG）にて微粉とした（瓢箪間歩）。

## 3) 原子吸光分析（測定は日本食品分析センター）

①装置：日本ジャーレル・アッシュ AA-890型を使用した。

②灰化試料の前処理：硝酸（約10%）を加え、約150℃のホットプレート上で加熱した後、ろ過。ろ液に水を加えて希釈し、最終的に1%溶液に調製して試料溶液とした。

③土壌試料の前処理：瓢箪間歩-硝酸10 mLとフッ化水素酸10 mLを加え、約150℃のホットプレート上で加熱し、土壌中のケイ素をフッ化ケイ素の形で揮散させ溶かした後、硝酸溶液を水にて1%溶液に調製して試料溶液とした。玄能間歩-灰化試料と同じ方法とした。

④試薬：硝酸は、精密分析用試薬（シグマアルドリッチ・ジャパン製）を、フッ化水素酸は、試薬特級（森田化学工業製）を用いた。

4) 蛍光X線分析（測定は東レリサーチセンター）  
装置：理学電機工業（株）製の自動蛍光X線分析装置 RIX 3000（波長分散型）を使用した。

①試料調製：試料（灰化物では2.0 g、土壌では6.0 g）を35 mmφ塩化ビニールリング（厚さ3 mm）に採取し、加圧成型した後、固体用試料セルに固定して測定した。

②測定条件：銀の測定には、Rh管球を使用。管電圧・管電流は50 kV、50 mAとし測定。分光結晶はLiF。他の元素では、50 kV、50 mAを最大に、元素の種類に応じ調整した。分光結晶はLiF、PET, TAP, Ge, RX 40, RX 60。

## 結果及び考察

### 1) 銀の定量（原子吸光分析法）

ヘビノネゴザ中の銀を定量した結果はTable 2のとおりである。灰化試料に対して原子吸光分析した結果、玄能間歩の根茎・根中111.0 ppm、葉部の試料中20.9 ppmの銀が定量された。瓢箪間歩の根茎・根、葉部の各試料中46.1 ppm、75.4 ppmと定量された。これらの定量値を灰化する前の試料（乾燥試料）中の量に換算すると、玄能間歩の根茎・根中では7.3 ppm、葉部では1.7 ppmとなり、瓢箪間歩の根茎・根中では1.6 ppm、葉部では4.5 ppmと計算された。銀は植物体の全体にわたり数 ppmレベルで存在することがわかった。Table 2には、コシダの葉部の分析例を示しているが、検出限界（乾燥重量当り0.2 ppm）以下であり、銀は検出されなかった。ヘビノネゴザの瓢箪間歩の葉部試料中の含量が玄能間歩のものよりも高濃度になっているのは、

Table 2. Determination of silver in *Athyrium yokoscense* and soil by atomic absorption spectrometry

Sampling place	Ag (ppm)		
	Rhizome and root	Leaf	Soil
<i>Athyrium yokoscense</i>			
Old mine, Gennō Mabu Plant : ashed sample Soil : powdered with Method 1	111.0	20.9	55.7
Old mine, Gennō Mabu (Plant : dried sample)	7.3	1.7	
Old mine, Hyōtan Mabu Plant : ashed sample Soil : powdered with Method 2	46.1	75.4	69.0
Old mine, Hyōtan Mabu (Plant : dried sample)	1.6	4.5	
<i>Dicranopteris linearis</i>			
Old mine, Kanaura Mabu (Plant : dried sample)		<0.2 (under detection limit)	

Determination of silver in *Dicranopteris linearis* : The ashed sample showed response under the detection limit by the method, 5.0 ppm. The analyte in the ashed sample was concentrated to 30 times concentration of the dried sample.

前者が冬季（3月）の枯葉を採取したのに対し、玄能間歩のものは夏季の成育の盛んな時期（6月）の成長葉を採取した違いからであり、冬季試料は、葉が年間を通じて金属を吸収、蓄積した結果の反映ではないかと考えられる。

一方、土壌（植物由来の腐葉土等は除く）を分析した結果、銀は玄能間歩のものでは 55.7 ppm、瓢箪間歩のものでは 69.0 ppm であった。土壌は大小の岩石と砂からなる。瓢箪間歩の土壌分析の値は、根茎・根に付着した岩石を含む土壌全体（土質）の成分の定量値である（方法-2）。玄能間歩周辺の土壌は他の間歩周辺と比べて鉱石類が多量に散在し、採取した土壌中にも岩石に混じって鉱石は含まれた。植物体中の金属類の量と土壌中の濃度との関連を見るとき、明らかに金属含有鉱石が混じる土壌では、全体を方法-2のように均質にすれば、間歩全域の土質とは異なる高濃度の定量値が出ると予想された。このような土壌では、岩石（鉱石を含む）を除き、植物体の吸収に寄与している根茎・根に接した表面積が大きくサイズの小さい細粒を試料として分析し（方法-1）の方が適当と考えられた。二地域の土壌の値は近似したが、もし、玄能間歩試料を方法-2で前処理すれば、定量値はさらに高値になったのではないかと推測される。

## 2) 金属類の分析（蛍光 X 線分析法）

波長分散型装置により測定した X 線強度から、玄能間歩の根茎・根及び土壌中の各種元素の濃度範囲を推定（半定量）した結果は、Table 3 に示すとおりである。根茎・根中の重金属類としては Cu, Fe

を最大に、Cd, Mn, Pb, Zn, Ag, Ni, Zr の計 9 種類が観測された。銅、鉄は実試料（乾燥重量）単位で 660 ppm 以上に達する。蛍光 X 線スペクトルの Ag のピークを示したのが Fig. 1A である。Ag の K $\alpha$  線（ピーク 1）、K $\beta_1$  線（ピーク 2）が明瞭に観測された。一方、植物に付着した土壌中の重金属類は、Fe を最大に、Cu, Mn, Pb, Zn, Ag, Ni, Zr, Sb, Sn の計 10 種類が観測された（Table 3）。土壌試料についてのスペクトルの一部を拡大したのが Fig. 1B である。Ag の K $\alpha$  線（ピーク 5）、K $\beta_1$  線（ピーク 6）、Sn の K $\alpha$  線と重なる）が観測された。植物の灰分と土壌を比較して、大きく異なる点は、植物には Cd が多量（実試料（乾燥）中 66~660 ppm）に検出されている（Fig. 1A、ピーク 3, 4; Table 3）が、土壌中では Cd が検出されなかったこと、植物の方に Cu が多く検出された（Table 3、実試料（乾燥）中 660 ppm 以上）ことである。Cd や Cu が多いのは、植物体中で吸収し、蓄積・濃縮されていることを示している。

二種類の分析法により、ヘビノネゴザが銀を含有することが確認され、その量は、実植物の乾燥試料として 10 ppm 近くに達することが判明した。また、銅、鉄を数百 ppm 以上、その他重金属類計 9 種が含まれたことから集積植物としての特性が検証された。

## 3) 銀取り込みに対する機構

植物の重金属耐性は、ポリペプチドの一種フィトケラチン、すなわち poly-( $\gamma$ -glutamylcysteinyl)glycine (n=2~11) が、金属と安定なチオール錯体を

Table 3. Determination of silver in *Athyrium yokoscense* and soil from Gennō Mine (semiquantitative analysis) by X-ray fluorescence spectrometry

Content	Elements identified			
	Rhizome and root (Ashed sample)		Soil	
> 1%	Heavy metal	Cu, Fe	Heavy metal	Fe
	Other metals and elements	Al, Ca, K, Mg, B, C Cl, N, O, P, Si	Other metals and elements	Al, Ca, K, C, O, Si
0.1–1%	Heavy metal	Cd, Mn, Pb, Zn	Heavy metal	Cu, Mn, Pb, Zn
	Other metals and elements	Ba, Na, F, S	Other metals and elements	Mg, Na, Ti, F
0.1% >	Heavy metal	Ag, Ni, Zr	Heavy metal	Ag, Ni, Zr, Sb, Sn
	Other metals and elements	La, Rb, Sr, Ti, Y, Br	Other metals and elements	Ba, Rb, Sr, Y, Cl, P, S

In the Table, the percent values of metals in rhizome and root means the concentration in the ashed samples after ignition. When the percent values are converted to the concentration in the dried sample of the plant, they are not less than 660 ppm, 660–66 ppm and not more than 66 ppm, respectively.

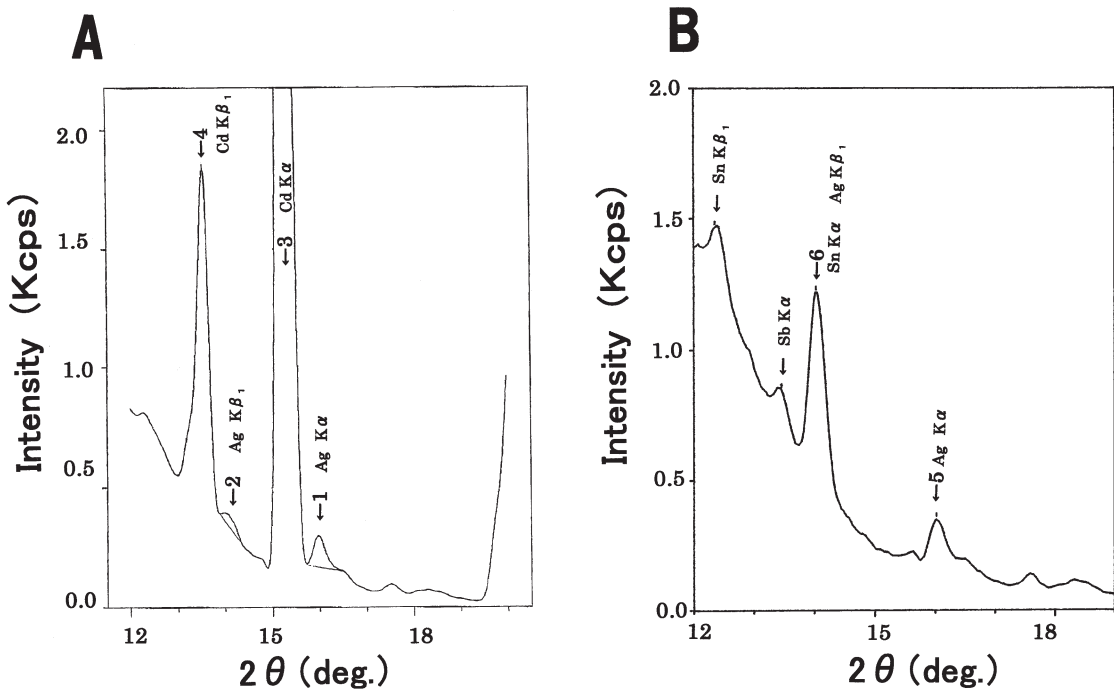


Fig. 1. X-ray fluorescence spectrum of *Athyrium yokoscense* (ashed sample) and the soil to detect Ag and its region. A, Rhizome and root ; B, Soil. 1, Peak of Ag K $\alpha$  line ; 2, Peak of Ag K $\beta_1$  line ; 3, Peak of Cd K $\alpha$  line ; 4, Peak of Cd K $\beta_1$  line ; 5, Peak of Ag K $\alpha$  line ; 6, Peak of Sn K $\alpha$  line and Ag K $\beta_1$  line.

作り、無害化することによると報告されている（モア・ショッパー 1998）。Grill et al. (1987) は、インドジャボク (*Rauwolfia serpentina* Benth. et Kurtz) の培養細胞に重金属イオン類を共存させ、フィトケラチンの生成を見た。そして、金属の種類によってフィトケラチン生成量 (n=2, 3, 4 の合計) は異なり、多いものから順番に、Cd, Pb, Zn, Sb, Ag, Ni, Hg, As ( $\text{HAsO}_4^{2-}$ ), Cu, Sn, Se ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ), Au, Bi, Te, W を観測した。これにより、銀によるフィトケラチンの誘導は、重金属類のなかでも強いことが示唆された。実際に、Mehra et al. (1996) は、フィトケラチン (n=2, 3, 4) に  $\text{Ag}^+$  を共存させた際の構造変化を分光学的に捉え、結合性を証明した。これらの報告から、銀は一般の重金属なみに植物体に取り込まれること、ヘビノネゴザ中にもこのフィトケラチン・錯体形成の機構が関与しているのではないかと想定された。

ヘビノネゴザの鉛取り込みの機構について本浄他 (1988) は、鉛が根の皮層の細胞壁に集積していることから、細胞壁を構成するセルロースの水酸基、ペクチンのカルボキシル基との吸着相互作用によると考察した。今回、かって銅、銀を生産した旧鉱山、多田鉱山に生育するヘビノネゴザ中に、植物体にとり必須重金属ではない銀が確認されたこと、また、銀が同じ土壌条件と考えられる場所に生育する種の異なるシダ植物 (コシダ) には認められなかったことから、ヘビノネゴザの一面での特性 (特異性) が明らかとなった。重金属を高濃度に取り込む集積植物について、Boyd (1998) は、重金属が植物の生育に寄与し有利な条件となる理由・根拠を論じている。その中で、集積植物は重金属含有により外敵となる草食動物 (昆虫など) から防御されることが、実験により確かめられている。例えば、高濃度重金属含有の植物の葉と、低濃度含有の葉を同時に昆虫 (幼虫) に給餌、飼育した結果、摂食による葉の損傷の程度は、高濃度植物側に少なく、また、同種の実験を植物や金属を変えても昆虫の側の選択性 (低濃度側への摂食) が認められた。このような動物側の高濃度汚染植物の選択的忌避と動物体内に吸収される重金属の毒性が昆虫の成長を抑える事実などから、集積植物は金属含有により外敵となる草食動物 (昆虫など) から防御されている (防御仮説)。多田鉱山におけるヘビノネゴザにも重金属を高濃度に取り込むことにより外敵から防御され、他植物よりも有利に生育していると推定された。

## 謝辞

ヘビノネゴザ研究について自著論文 (総説) を紹介いただいた金沢大学理学部本浄高治教授に深謝致します。また、機器分析に関して助言いただきました日本食品分析センター木村慎太郎氏に厚くお礼を申し上げます。

## 引用文献

- Boyd, R.S. 1998. Hyperaccumulation as a plant defensive strategy. Brooks, R.R. (ed.). *Plants that hyperaccumulate heavy metals*, pp. 181–201. CAB International, New York.
- 茅野充男・小畑 仁. 1988. 重金属と植物. 茅野充男・斎藤 寛 (編). *重金属と生物*, pp. 81–142. 博友社, 東京.
- Grill, E., Winnacker, E.-L. and Zenk, M.H. 1987. Phytochelatins, a class of heavy-metal-binding peptides from plants, are functionally analogous to metallothioneins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**: 439–443.
- 本浄高治. 1990. 指標植物中の重金属のキャラクター化. *ぶんせき* **3**: 79–81.
- 本浄高治. 1999. 重金属と指標植物-自然環境の回復-. 金沢大学日本海域研究所報告 **30**: 171–193.
- 本浄高治・谷口 陽・八田昭夫. 1988. 金沢城鉛瓦汚染地域におけるシダ植物ヘビノネゴザの鉛集積の経時変化と状態分析. *植物地理・分類研究* **36**: 92–100.
- 岩槻邦男 (編). 1992. 日本の野生植物 シダ. 233 pp. 平凡社, 東京.
- Mehra, R.K., Tran, K., Scott, G.W., Mulchandani, P. and Saini, S.S. 1996. Ag (I) -Binding to phytochelatins. *J. Inorg. Biochem.* **61**: 125–142.
- モア, H. ショッパー, P. 1998. 網野真一・駒嶺 穆 (監訳). *植物生理学*, pp. 258–259. シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京. (orig. Mohr, H. and Schopfer, P. 1992. *Pflanzenphysiologie*, 4 Aufl. Springer-Verlag, Berlin.)
- 酒井雄一郎・福岡辰彦・本浄高治. 1991. 耐重金属性シダ植物 “ヘビノネゴザ” における鉛の組織内分布と形態. *日本化学会誌* **5**: 416–421.
- 多田鉱山史跡保存顕彰会 (編). 2003. 多田鉱山史跡と伝承. pp. 1–10. 多田鉱山史跡保存顕彰会, 猪名川.
- (Received March 14, 2005; accepted August 5, 2005)