

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：32660

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25630308

研究課題名(和文)酸化チタンクラスターの植物へのドーピングによるバイオアクチベーション概念の創出

研究課題名(英文) Introduction of photocatalytic nanoparticles for plant growing

研究代表者

藤嶋 昭 (Akira, Fujishima)

東京理科大学・学長室・学長

研究者番号：30078307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：酸化チタン光触媒を植物にドーピングすることで、植物の模倣ではなく植物自体の活性を向上させることができないかと考え、酸化チタンを懸濁した栽培溶液を用いて植物を育成し、組織内部への酸化チタン微粒子の吸収と、酸化ストレスを指標とし生体機能への影響を調査した。組織中の過酸化水素量を測定したところ、光触媒と紫外線の照射により酸化ストレスが抑制された可能性が高いことがわかった。これは、紫外線や光触媒反応により生成された活性酸素種などに対して植物が応答し、抗酸化作用を活性化させたことによると考えられ、光触媒微粒子の導入により植物の抗酸化力が向上することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Plant growing has many problems such as its high cost, low yielding and demanded quality. The solution is highly desired in the modern agriculture. TiO<sub>2</sub> photocatalyst is low cost and safe material as well as shows the anti-bacteria and purification properties. In our research, we introduced photocatalytic nanoparticles to plant and studied the effect of plant growing. As a result, the oxidative stress was inhibited after introducing of TiO<sub>2</sub> nanoparticles into the plant.

研究分野：化学

キーワード：酸化チタン 植物育成 酸化ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

植物は太陽エネルギーを有効に使い、光捕集、電荷分離、水の酸化還元、二酸化炭素の固定化を巧みに統合した光合成反応を成し遂げている。この神秘的ともいえるよくできた仕組みは、光化学系 II タンパク質複合体の構造が近年ようやく解明され世界的な注目を集めたように (Nature 2011, 473, 55), まだわからないことが多い。自然に学ぶデザイン工学は科学技術分野で盛んに行われ、光合成におけるバイオミメティック (生物模倣) は申請者が世界で最初に見出している。酸化チタンに光照射した水分解 (Nature 1972, 238, 37) や光電気化学的二酸化炭素の固定化技術 (Nature 1979, 277, 637) である。可視光が使えず効率も低いことが課題であったが、金属錯体や d0 及び d10 電子状態のナノ複合酸化物による光合成メカニズムを模倣した Z スキーム型光触媒へと発展している。しかし、不安定な金属錯体や貴金属等を使用し、また変換効率も不十分なことから課題が残されている。一方、最近の潮流として、バイオインスパイアード概念の導入も見逃せない。すなわち、光合成プロセスを担う反応中心タンパク質複合体を抽出し、それを基板上に固定化した光電変換素子のように、生体の機能を人工的に活かす考え方である。南後らは、植物から抽出した光化学系 I のタンパク質複合体による光電変換効率を調べ、酸化チタン基板を用いると、ITO や Au に比べ数百倍向上することを報告している (ACS Macro Lett. 2012, 1, 296)。また、タンパク質複合体をペプチド脂質で化学的に安定化させ、変換効率 0.08 % を達成したことも報告されているが、それでもなお光合成植物の 1/10 以下であった (Sci. Rep. 2012, 2, 234)。

一方、自然界の植物そのものに目を向けると、枝を広げて太陽光を受け取っている様子から、この自然の力を最大限活用し、なおかつ、その活力を増強することができればとの思いに至った。すなわち、酸化チタンを植物に吸収させ、光合成活動を増強するバイオアクセッションという考え方である。自然界の光合成反応を維持したまま、酸化チタンは光合成タンパク質との相互作用において有効に働き、機能向上に寄与することが期待できる。

## 2. 研究の目的

植物の機構を模倣する研究や成分を利用した研究を行っても効率を上げることが難しいという現状から、植物自体に機能性材料を融合させ、植物の機構を強化し、材料として利用価値の高い有効的な複合構造が出来ないかと考えた。光触媒微粒子である酸化チタンを植物に取り込ませることにより、植物生体内の電子移動機構に影響を及ぼすことが出来れば、色素増感太陽電池を始めとする

機能性材料開発の新たな糸口となり得る可能性がある。また、植物自体の二酸化炭素固定化作用を強化することも可能であるかもしれない。本研究では、植物と機能性材料を融合させるための第一歩として、酸化チタン微粒子を懸濁した栽培液で植物を育成し、酸化チタン微粒子を植物内に取り込ませ、その結果及ぼされる影響について調査した。

## 3. 研究の方法

水耕栽培用植物工場を立ち上げ、養液栽培肥料 (大塚アグリテクノ (株) 製) を用いて調製した栽培溶液に酸化チタン微粒子 (ST-01 石原産業 (株) 製) 及び水分散液 (TKD-801 テイカ (株) 製) を添加し、バジルの苗及びオランダガラシを人工光型植物工場準拠の栽培棚上で、白色 LED 照射 (約 10000 lx, 照射時間 16 時間/日), 気温 22 ~ 24 °C で 10 日間育成した。サンプルの半数にはブラックライトで紫外線 (波長 352 nm) を照射した。育成後、チオバルビツール酸反応性物質 (TBARS) 及び過酸化水素を紫外・可視分光法 (UV-VIS) を用いて測定し、酸化ストレスの評価を行った。また、葉と茎を 1100 °C で焼成し、得られた残渣をエネルギー分散型 X 線分光法 (EDS) で解析し、組織内への酸化チタンの導入を調べた。また、バジルの脇芽を同様の条件で栽培し、7 日間の発根数の推移と組織内の酸化チタンの有無を評価した。

## 4. 研究成果

### (1) 植物の育成と光触媒微粒子の導入

図 1 に人工光型植物工場での栽培の様子を示す。ここでは養液を循環させて水耕栽培を行ったが、その養液中での光触媒微粒子の粒径測定を動的光散乱により測定したところ、ST-01 では平均粒径が 906.2 nm, TKD-801 では 58.7 nm に凝集していること



図 1. 人工光型植物工場での栽培の様子

がわかった。各々の一次粒径の公称値は 7 nm と 6 nm であった。

栽培後にバジル脇芽、バジル苗、オランダガラシ苗の EDS の簡易定量によるチタン検出量をみると、いずれも ST-01 でも微量のチタンが検出されたが、TKD-801 暴露時に最もチタンが検出された。バジル脇芽が最も多く検出されているが、これは切り口から導管を通じて微粒子が吸収されたためであると考えられる。しかし TKD-801 暴露時、バジル、オランダガラシともに苗からもチタンが検出されていることから、根を経ての吸収が確認された。したがって、高分散性で粒径が 50~60 nm 程度の微細なものであれば根の組織を通過して吸収されることが明らかになった。根の細胞壁の間隙や根の微細な傷などを経て内部に導入されたと考えられる。また、バジルはフロートより上部の組織(茎、葉)を、更に上部と下部に分けて分析を行った。その結果下部のチタンの検出量が多かったことから、吸収された微粒子は組織上部までは輸送されず組織下部に蓄積されるということがわかった。

また、クレソンの焼成物を XRD 測定した結果を図 2 に示す。ブランクのピークを同定することにより、クレソンの焼成物は主に酸化カルシウム、硫化カリウム、炭酸マグネシウムなどを含むことがわかった。TKD-801 暴露のサンプルとブランクのピークを比較すると、TKD-801 に特有のピークが存在した。これを同定したところ、ペロブスカイト(チタン酸カルシウム)であった。これは焼成により酸化チタンと組織中のカルシウムが反応して生成したものと考えられる。このことから、酸化チタンが植物組織中に導入されたことが確認できた。

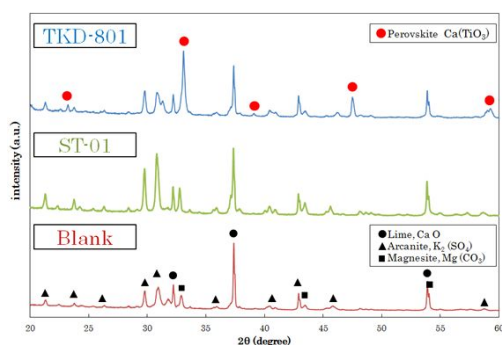


図2. クレソン焼成物の XRD 測定結果

## (2) 光触媒微粒子の植物への影響

光触媒微粒子の植物への影響を見るにあたり、酸化チタンナノ粒子を懸濁した栽培液でバジル苗を育成した。育成後、紫外可視分光分析(UV-vis)を用いて、酸化ストレスの評価とクロロフィル濃度の測定を行った。酸化ストレスの測定にはチオバルビツール酸反応法(TBARS法)及びヨウ化カリウムの呈色反応を用いた。また、バジルの脇芽を栽培し酸化チタン暴露による発根数への影響

を調査した。

組織中の過酸化水素量を UV-VIS を用いて測定したところ、酸化チタンを添加したものは吸光度が低下し(図 2)、TBARS 測定においても、紫外線照射したものは吸光度が低い値を示した。測定したこれらの吸光度は酸化ストレスに由来する物質の濃度に比例するため、光触媒と紫外線の照射により酸化ストレスが抑制された可能性が高い。これは、紫外線や光触媒反応により生成された活性酸素種などに対して植物が応答し、抗酸化作用を活性化させたことによると考えられ、光触媒微粒子の導入により植物の抗酸化力が向上することが明らかとなった。

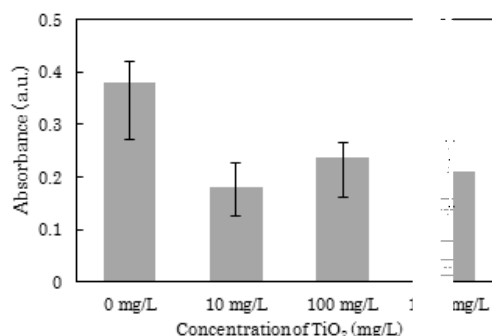


図3. 光触媒微粒子を暴露したバジルの UV 照射時の過酸化水素濃度

クロロフィル濃度については、酸化チタンの濃度にかかわらず、紫外線照射したものはクロロフィル濃度が低くなった。紫外線等の環境因子は植物の老化を促進させ、あるいはより直接的に細胞のネクロシスを引き起こす。植物細胞が死ぬ際、クロロフィルはマグネシウムデキラターゼ酵素の働きなどによりマグネシウムを遊離させ、フェオフィリドやフェオフィチンなどに分解される。クロロフィルはマグネシウムを失い水素に置換されることで電子状態の制限が緩和され、光吸収に関与できる状態が限定されなくなり、褐色に近い色となる。また、クロロフィルが分解されることで下層にあるカルテノイドの色が反映され黄色に近づく。このようにして葉はストレスで黄変する。したがって、紫外線照射の影響で植物のクロロフィルが分解され濃度が減少したと考えられる。本結果からは光触媒効果による影響は確認できなかった。

また、バジルの脇芽の発根数をみると、TKD-801 を暴露したサンプルは不定根の形成が著しく阻害されることが確認された。ブランクや ST-01 の発根数においても UV 照射によりある程度抑制される結果となった。発根が著しく阻害された TKD-801 暴露のサンプルは、比較的高濃度の酸化チタンが吸収されていることが確認されていた。内部に取り込まれた微粒子を異物として認識したか、あるいは光触媒反応により生成した活性酸素種に反応し、ホルモンバランスが変化したこ

とに起因する可能性が考えられる。外部からのストレスを受けるとカルシウムイオンなどによりシグナル伝達を引き起こされ、関連するタンパク質のリン酸化による活性化を誘導し、ストレス応答性の遺伝子群の転写、翻訳を誘導する。その結果ストレス耐性を付加するホルモンを生成する。これらが原因となって不定根の形成にも影響を与えたと考えられる。たとえば、ブラシノステロイドと呼ばれるステロイド類は、様々な生物学的および非生物的環境ストレスへの耐性を付加するはたらきがある。しかしこのステロイドホルモンは、低濃度では根の成長、屈地性を促進するが、高い濃度では逆に阻害することが知られている。また、アブシジン酸もストレス耐性を付加するホルモンであるが、これは細胞分裂を抑制し休眠を促す作用がある。このように、光触媒微粒子やUV照射により誘導されたホルモンの働きが不定根形成を阻害したと考えられる。

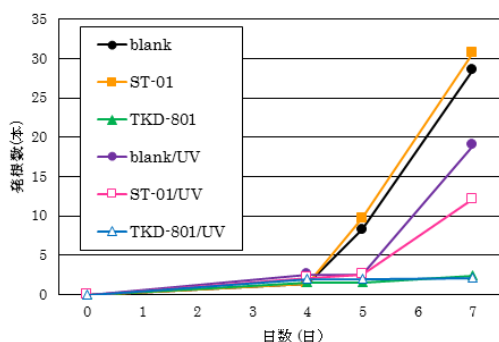


図4. バジル脇芽の発根数

本研究を通して得た成果および知見を以下にまとめる。

- ・バジル、オランダガラシの栽培において分散性の高い粒径 60 nm 程度の光触媒微粒子は、根を経て組織内に吸収されることが確認できた。
- ・生体内に吸収された光触媒微粒子は主に下部の茎、葉に蓄積されていた。
- ・光触媒微粒子の導入により植物の抗酸化作用を向上させる可能性を見出した。
- ・紫外線照射によりクロロフィル濃度が減少したが、光触媒の影響は確認できなかった。
- ・脇芽の栽培時に光触媒微粒子が取り込まれると、不定根の形成が抑制されることが明らかとなった。

以上より、光触媒を植物に導入することは可能であり、植物の生体機能に影響を及ぼすことが確認できた。今後の研究により、機能性材料として利用価値の高い植物への影響を確認できる可能性があると考えている。

## 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)

〔学会発表〕(計7件)

(1) 真田拓生, 寺島千晶, 中田一弥, 近藤剛史, 湯浅真, 藤嶋昭, "可視光応答型光触媒を用いた水耕栽培液の防藻及び成長阻害物質の分解", 日本化学会第95春季年会, 千葉・日本大学理工学部 船橋キャンパス/薬学部, 2015年3月27日(国内)。

(2) 山口友一, 中田一弥, 寺島千晶, 酒井秀樹, 藤嶋昭, "植物灰添加による可視光応答型光触媒 WO<sub>3</sub> のアセトアルデヒド完全分解", 日本化学会第95春季年会, 千葉・日本大学理工学部 船橋キャンパス/薬学部, 2015年3月28日(国内)。

(3) 山口友一, 中田一弥, 寺島千晶, 酒井秀樹, 阿部正彦, 藤嶋昭, "植物灰添加による可視光応答型光触媒 WO<sub>3</sub> のアセトアルデヒド完全分解", 第21回シンポジウム「光触媒反応の最近の展開」, 東京・東京大学生産技術研究所コンベンションホール, 2014年12月12日(国内)。

(4) 真田拓生, 寺島千晶, 中田一弥, 近藤剛史, 湯浅真, 藤嶋昭, "可視光応答型光触媒による水耕栽培液の浄化", 第21回シンポジウム「光触媒反応の最近の展開」, 東京・東京大学生産技術研究所コンベンションホール, 2014年12月12日(国内)。

(5) T. Sanada, C. Terashima, K. Nakata, T. Kondo, M. Yuasa, and A. Fujishima, "Effect of Introducing with Photocatalytic Nanoparticles into *Ocimum Basilicum* and *Nasturtium Officinale*", The 20th China-Japan Bilateral Symposium on Intelligent Electrochromic Materials and Molecular Electronics, Chengdu, P.R. China, 2014年9月22日(海外)。

(6) 真田拓生, 寺島千晶, 中田一弥, 近藤剛史, 湯浅真, 藤嶋昭, "植物育成への光触媒微粒子の導入効果", 日本化学会第94春季年会, 愛知・名古屋大学 東山キャンパス, 2014年3月27日(国内)。

(7) 真田拓生, 寺島千晶, 中田一弥, 近藤剛史, 湯浅真, 藤嶋昭, "光触媒微粒子による植物育成に及ぼす影響", 第20回シンポジウム「光触媒反応の最近の展開」, 東京・東京大学生産技術研究所コンベンションホール, 2013年12月13日(国内)。

〔図書〕(計2件)

(1) 寺島千晶, 中田一弥, 藤嶋昭, 「環境光触媒と植物工場」, 会報光触媒, 43, 総ページ数73のうちpp54-59(2014)。

(2) 池北雅彦, 中田一弥, 寺島千晶, 森戸祐幸, 「環境浄化グループについて」, 科学フォーラム, 9, 総ページ数63のうちpp21-25(2014)。

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.rs.tus.ac.jp/pirc/>

6．研究組織

(1)研究代表者

藤嶋 昭 (Akira Fujishima)  
東京理科大学・学長室・学長  
研究者番号：30078307

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

池北 雅彦 (Masahiko Ikekita)  
東京理科大学・理工学部・教授  
研究者番号：70138981