

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20510073

研究課題名(和文) 植物の根圏土壌微生物を利用したVOCs汚染土壌浄化方法の研究

研究課題名(英文) Study on cleanup of VOCs polluted soil utilizing soil bacteria in plant rhizosphere

研究代表者

砂田 香矢乃 (KAYANO SUNADA)

東京大学・先端科学技術研究センター・特任准教授

研究者番号：20311433

研究成果の概要(和文)：自然エネルギーや自然に本来備わっている浄化作用を利用して、環境汚染物質を分解・無害化することを目標にして、トリクロロエチレンやトルエンに代表される揮発性有機化合物(VOCs)に汚染された土壌を、ダイズが植栽された土壌の根圏に棲息する微生物を利用して浄化するバイオレメディエーションにおいて、アスパラガスの根から滲出される生育阻害物質を利用することにより、その浄化効果を持続できることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To cleanup soil polluted by volatile organic compounds (VOCs) such as trichloroethylene and toluene, soil bacteria in a rhizosphere of *Glycine soil* (soil planting *Glycine max*) were utilized. It is suggested that the activity of soil bacteria can be kept by phytotoxic compounds of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) in the bioremediation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：環境化学・光触媒

科研費の分科・細目：環境学・環境技術

キーワード：環境修復技術・土壌浄化・植物根圏微生物・植物生育阻害物質・揮発性有機化合物(VOC)・混植

1. 研究開始当初の背景

環境改善・環境浄化のために必要なエネルギーを化石燃料に求めると、CO₂排出などから、新たな環境問題を引き起こしてしまうことになる。そのため、環境浄化のために必要なエネルギーは、自然エネルギーに求めるべきである。また、環境問題は、本来自然に備わっていた醗酵・腐敗による自浄作用がくずれ、汚染物質が自浄されずに蓄積したために、

自然循環のバランスが壊れて発生してきたと言われている。その原因から考えると環境問題を解決するには、自然循環による自浄作用を無視しない、自浄作用を促進する技術でなければならないと考える。

そこで、太陽光という自然エネルギーと光触媒反応を使った土壌浄化に取り組んできた。光触媒反応は、環境汚染物質をCO₂にまで分解できるため、微生物による自浄作用と

同じ働きである。この光触媒反応による土壌浄化と微生物による土壌浄化（バイオレメディエーション）を組み合わせて浄化のスピードを高めることができないかと考えた。

しかし、バイオレメディエーションにおいては、

①土壌に棲息している微生物を活性化させて浄化するバイオスティミュレーションについては、微生物を活性化させるために栄養剤や還元剤を加える必要があること。

②地下水など土壌に水分が必要であること。

などの問題点が知られている。また、光触媒反応による抗菌効果が知られているため、光触媒反応と微生物による反応を別々に分けておこなう必要がある。このような問題点解決のために、本研究を行った。

2. 研究の目的

環境汚染物質を自然エネルギーや自然に本来備わっている浄化作用を利用して、分解・無害化することを目標にして、トリクロロエチレンやトルエンに代表される揮発性有機化合物（VOCs）に汚染された土壌を、植物の根圏（Rhizosphere）に棲息する微生物と光触媒反応を利用して浄化することを目的とした。従来の土壌浄化法のひとつである微生物を利用したバイオレメディエーションにおいては、微生物を活性化させるために栄養剤や還元剤などを加えること、地下水など水分が必要であることが問題となる場合がある。本研究においては、植物と共生関係にある微生物を利用することで、自然の自浄作用を促進して環境に低負荷なシステムで環境汚染物質を浄化することが可能となる。すなわち、太陽光という自然エネルギーを利用して、光触媒反応による VOCs 分解と植物とその根に棲息する微生物による VOCs 分解を行い、ひとつの土壌浄化法を確立することを目標とした。

3. 研究の方法

(1) VOCs を分解する植物根圏微生物の探索

トリクロロエチレン(TCE)、トルエン分解能があることが知られている微生物(Nelson et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**(5), 949, 1987 など)である *Pseudomonas putida* NBRC100650、*Pseudomonas putida* NBRC10209、*Acinetobacter sp.* NBRC100985 の分譲を受けた。それらの菌株を培養（培地は Basal salt medium）し、さらに、1mmol のトルエン蒸気の存在下で培養を行った。また、神奈川県農業技術センターのダイズが植栽されている土壌の分譲を受け、土壌を液体培

地に入れて培養し、さらにその混合菌液をトルエンの蒸気存在下で培養を行った。

その蒸気下で増殖してきた菌株を用いて、トルエンと TCE の分解能を調べた。トルエンと TCE は、液層は HPLC により、気相はガスクロマトグラフィーにより定量を行った。

(2) 植物生育阻害物質添加の影響

通常のバイオレメディエーションにおいては、微生物の分解活性を維持するために、栄養剤や還元剤などを添加することが必要である。これを自動的に行うことができるように、植物の根から滲出される生育阻害物質（アレロパシー物質）が利用できないかと、アスパラガスのアレロパシー物質として知られている 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid と 4-methylcatechol の添加したときの影響について、TCE の分解活性を調べた。

(3) 小規模の植物栽培

大豆が生育している土壌根圏の微生物とアスパラガスの生育阻害物質が利用できないかと大豆とアスパラガスの小規模の単位でのそれぞれ単独での栽培（図1）と2種の混植を試みた。それらの土壌に TCE を添加し、TCE の分解活性を調べた。



図1 小規模の植物栽培のようす
(アスパラガス単独栽培)

4. 研究成果

(1) VOCs を分解する植物根圏微生物の探索

トルエン蒸気の存在下で、増殖が認められたものは、*Pseudomonas putida* NBRC100650 ならびにダイズが植栽された土壌からの培養菌液であった。その菌体について、トルエンと TCE の分解活性を調べたところ、ダイズが植栽された土壌からの菌液の方が、分解活性は高いことが確認できた（図2）。これは、

単菌であるよりも、自然界に近い複数の混合菌体の方が、分解には適しているためと考えられた。

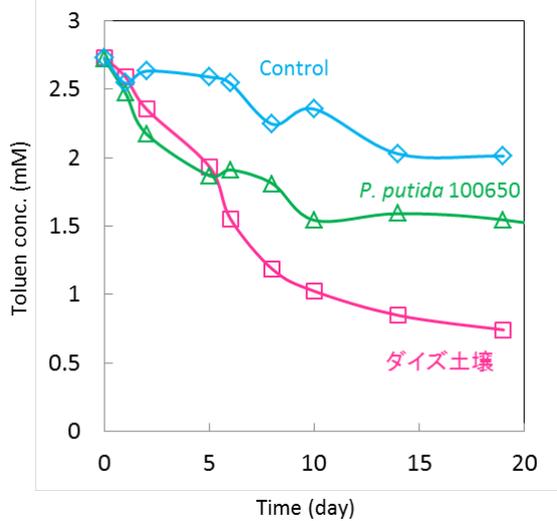


図2 トルエン蒸気下で生育した菌体でのトルエン分解のようす
Control は、菌体が入っていない状態

(2) 植物生育阻害物質添加の効果

トルエン蒸気下で生育したダイズ土壤からの菌液について、アスパラガスの生育阻害物質である 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid (3,4-DPAA)と 4-methylcatechol の添加したときの TCE の分解活性について調べた結果を表1に示した。ダイズ土壤からの菌液に資化できるトルエンを加えたものと生育阻害物質である 3,4-DPAA を加えたものでは、ほぼ同様の分解活性を示し、4-methylcatechol についても同様の傾向がみられた。この結果より、菌の活性を保つために、アスパラガスの根からの生育阻害物質を利用できる可能性が示せたと考えている。

表1 植物生育阻害物質の添加効果

Time (day)	Control (sterilized)	ダイズ土壤	ダイズ土壤 + toluene	ダイズ土壤 + 3,4-DPAA	ダイズ土壤 + 4-methylcatechol
0	4.8 mg/L	4.8 mg/L	4.8 mg/L	4.8 mg/L	4.8 mg/L
8	4.9	3.7	3.1	3.4	3.8
15	4.6	3.0	1.6	1.8	2.0

(3) 小規模の植物栽培結果

小規模でダイズとアスパラガスの植栽を試みたところ、当然であるが単独では植栽が可能であった。混植を試みたが、ダイズの方が成長が早かった。アスパラガスが遅れて生育したが、混植は可能であることがわかった。しかし、土壤浄化の現場においては、コントロールが難しいとも考えられたので、ダイズからの土壤菌体を維持するために、アスパラガスのみを植栽する方がよいと示唆された。

(4) 今後の展望 (土壤浄化の実証実験)

東京都内の現在営業中のクリーニング店地下のテトラクロエチレン(PCE)汚染土壤に対して、以下のような土壤浄化方法を行っている(図3)。すなわち、汚染のホットスポットに井戸を掘り、汚染ガスをポンプにより吸引し光触媒シート(酸化チタンと活性炭粉末を封入したもの)に吸着させる。そのシートを太陽光に干すことで光触媒反応を起こさせ、PCEを分解・無害化させ、その操作を繰り返すことで、汚染土壤の浄化を行うという方法である。

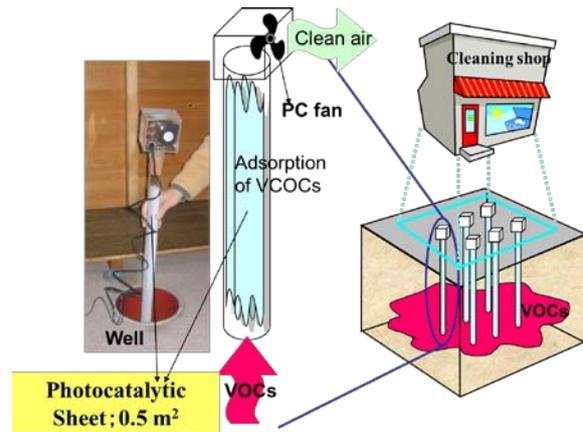


図3 光触媒反応を利用した原位置での土壤浄化システム

本システムで浄化をしている現場にて、ほぼ浄化は完了しているものの低濃度の PCE ガス濃度が観測されたところがある(図4)。また、地下 3m より深いところに地下水が流れており、その地下水も汚染されているため、図3の吸引のみではなかなか浄化されないという状況の現場もある。このような現場で本研究の知見を今後活かしていきたいと考えている。たとえば、低濃度のガス濃度が観測されているところでは、ダイズ土壤からの菌体を地下 50cm くらいのところに注入し、低濃度の PCE を分解できるかどうかを試みたい。その際、アスパラガスの植栽が許可されれば、同時に行いたい。また、地下水汚染

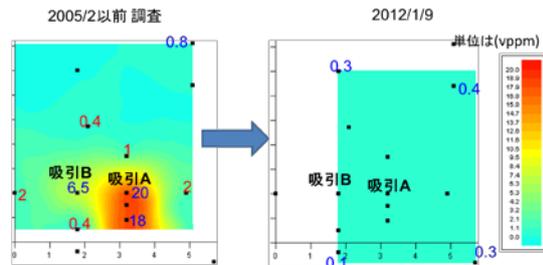


図4 光触媒反応を利用した浄化システム(図3)での浄化前後の表層 PCE ガス濃度分布

が観測されている現場においては、ダイズ土壌からの菌体を吸引井戸（深さ 3m）から注入し、そこに 3,4-DPAA を定期的を与えることで、浄化が進まないかを試したいと考えている。

本研究において、光触媒反応を使った土壌浄化とバイオレメディエーションを組み合わせることで、種々の汚染現場に適応できる浄化方法を開発できたと同時に、植物の根圏微生物という自然界の自浄作用を利用し、さらにその微生物の維持についても、植物生育阻害物質という自然界にあるものを利用できることを示すことができた点で意義があると考えられる。

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）

〔雑誌論文〕（計 9 件）

- ① 砂田香矢乃、橋本和仁、可視光応答型光触媒材料の最近の進展について、セラミックス、査読無、45、2010、964-967.
- ② 砂田香矢乃、橋本和仁、光触媒反応による抗菌・抗ウイルス効果とナノリスク評価、塗装工学、査読無、45、2010、348-353.
- ③ 砂田香矢乃、橋本和仁、光触媒による環境浄化の進展、「からだと光の事典」（株）朝倉書店、査読無、2010、46-49.
- ④ Miyama, Y.; Sunada, K.; Fujiwara, S.; Hashimoto, K., Photocatalytic Treatment of Waste Nutrient Solution from Soilless Cultivation of Tomatoes Planted in Rice Hull Substrate, Plant and Soil, 査読有、318, 2009, 275-283.
- ⑤ 砂田香矢乃、橋本和仁、農業への光触媒反応の利用、農業機械学会誌、査読無、71(6)、2009、4-8.
- ⑥ 橋本和仁、砂田香矢乃、光触媒技術の可能性、クリーンテクノロジー、査読無、19(6)、2009、1-5.
- ⑦ 砂田香矢乃、深山陽子、橋本和仁、光触媒材料の農業分野への展開産業と環境 査読無、38(10)、60-64.
- ⑧ 砂田香矢乃、橋本和仁、光触媒反応による安全で快適な生活空間をめざして、におい・かおり環境学会誌、査読無、40、2009、85-92.
- ⑨ Sunada, K.; Ding, X-G.; Utami, M. S.; Kawashima, Y.; Miyama, Y.; Hashimoto, K., Detoxification of Phytotoxic Compounds by TiO₂ Photocatalysis in a Recycling Hydroponic Cultivation System of Asparagus, J. Agricultural and Food Chemistry, 査読有、56, 2008,

4819-4824.

〔学会発表〕（計 5 件）

- ① Sunada, K.; Hashimoto, K. et al., Decomposition and Detoxification of Autotoxic Compounds in Asparagus plants by TiO₂ Photocatalysis, IHC2010、2010年8月25日、ポルトガル リスボン.
- ② 桐谷久恵、砂田香矢乃、橋本和仁、光触媒担持材料と太陽光利用による工場廃液タンクの悪臭低減効果、環境科学会、2010年9月17日、東京.
- ③ Kiriya, H.; Sunada, K.; Hashimoto, K. et al., Soil Cleanup Using Photocatalytic Sheet and Observation of TiO₂ Aerosol from the Sheet, SIEMME'16、2009年9月27日、Changchun(China).
- ④ 桐谷久恵・砂田香矢乃・橋本和仁 他、光触媒シートを利用した低コスト汚染土壌浄化方法の実証試験、環境科学会、2009年9月10日、札幌
- ⑤ 桐谷久恵・砂田香矢乃・橋本和仁 他、太陽光と光触媒シートを利用した原位置汚染土壌浄化方法の検討、環境科学会、2008年9月18日、東京

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.light.t.u-tokyo.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

砂田香矢乃 (SUNADA KAYANO)
東京大学先端科学技術研究センター・特任
准教授
研究者番号：20311433

(2) 研究協力者

深山陽子 (MIYAMA YOKO)
神奈川県農業技術センター・経営情報研究
部・主任研究員
研究者番号：00502098