

(4) 大気中のベンゼンおよびトルエンの緑化による除去ポテンシャルの検証

Removal Potential of Atmospheric Benzene and Toluene by Urban Greens

長谷川 聖^{*}, 並木 貴司^{***}, 荒巻 俊也^{****}, 花木 啓祐^{*}
Kiyo HASEGAWA^{*}, Takashi NAMIKI^{***}, Toshiya ARAMAKI^{****}, Keisuke HANAKI^{*}

ABSTRACT; Removing potential of benzene and toluene from atmosphere by urban green was investigated using glass vials and a chamber. Soil itself can remove the gases by adsorption and degradation effects. When soil was autoclaved, the initial adsorption effect was maintained, but the degradation ability diminished. It suggested that initially adsorbed gases were degraded in the soil biologically. The water content and the soil texture influenced on the initial adsorption, however they did not much affect degradation phase. When plants were added, the degradation rate was increased. It can be considered that the existence of plants stimulate the microbial activity in the soil.

KEYWORDS; Biodegradation; Soil; Water content; Plant

1. はじめに

ベンゼンの大気環境基準は年平均値で $3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.93 ppb, 20°C) 以下と定められているが、2003年度の環境省による調査では、沿道 111 地点中 23 地点で基準値を上回っていたことが報告されている。また、トルエンは、ガソリン中含量がベンゼンの 10 倍以上であり、Ho *et al.* (2004)の香港における調査では、 $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 前後のベンゼン濃度が検出される地点において、 $26 \mu\text{g}/\text{m}^3$ のトルエン濃度が観測されている。さらに、これらの物質は、室内空間での曝露も問題となる。Srivastava *et al.* (2000)が示したインドでの室外に対する室内濃度の比は、ベンゼンで 6.8 倍、トルエンでは 1.7 倍となっている。炭化水素類と植物との関連は、NASAにおいて、シックハウス対策として、観葉植物等による除去効果を示した例はある。しかし、沿道や室内緑化がもたらす除去効果を、土壌と植物と個別に検討した事例は見られていない。また、様々な影響因子、経時変化を高濃度条件下で検討した例もないことから、本研究においては、緑化によるベンゼン及びトルエンの除去ポテンシャルを、土壌種類、含水率、植物の存在といった観点から評価した。

2. 実験方法

2.1 バイアル実験

土壌がベンゼン及びトルエンの除去にもたらす影響を把握するため、表 1 に示した様々な条件を設定し、バイアル実験を行った。68mL バイアル瓶中に対象土壌 10g を入れた後、ブチルゴムセパラム、アルミールにて密閉する。標準ベンゼン・トルエン混合ガスを気相中に約 10ppm となるよう注入した後、気相におけるこれらガス濃度の経時変化を GC-FID (Shimadzu)にて測定した。サンプル採取量は、毎回 30 μL とし、サンプリングによる気相の減圧が無視できる程度に設定した。条件 1 においては含水率の影響把握を行った。土壌には市販黒ぼく土を使用し、滅菌土壌としては、同土壌を 121°C 、30 分にて高温高圧滅菌したものを用いた。土壌含水率は事前に含水率測定した土壌に超純水を添加することにより調整した。条件 2 においては屋上緑化にて軽量土として混合されるバーライトの影響を、条件 3、4 においては吸着性が高いとされる鹿沼土の粒径の違いを評価した。鹿沼土は篩いにかけて、粒径(1) 0.045~0.5mm、(2) 0.5~2.0mm、(3) 2.0~3.35mm の 3 分類にし使用した。条件 2~4 の滅菌土壌には、 121°C 、30 分の滅菌を 1 日 1 回、3 日間行ない、真菌類の影響も取り除いた間欠滅菌土壌を用いた。使用した各土壌の諸元は表 2 に示した。

※ 東京大学大学院工学系研究科 (Graduate School of Engineering, The University of Tokyo)

※※現職：パシフィックコンサルタンツ株式会社 (Pacific Consultants Co. LTD.)

※※※現職：アジア工科大学院赴任中 (Asian Institute of Technology)

2.2 ガラスチャンパー試験

植物の効果を把握するため、ガラスチャンパー（W24cm×D27cm×H34cm）を用いた試験を行った。チャンパー底部より10cmに黒ぼく土(2)6.3kgを敷き、土壌重量含水率は45.1%に調整した。それぞれの植物を植えた後、チャンパー上部をガラス板にて密閉する。チャンパー前面部には、三角コックつきサンプリングポートを設けており、ガスの注入およびサンプリングはそこを用いガスタイトシリンジ（Hamilton）にて行った。標準ベンゼン・トルエン混合ガスは、フッ素製100mL テトラバッグ（GLサイエンス）にガスボンベより一定量取り分けた物からチャンパー内に間欠的に注入し、その気相での経時変化を測定した。標準ガスは計6回注入し、1回目から4回目までは初期濃度が10ppm程度となるよう、5回目と6回目は約20ppmとなるよう注入した。チャンパーは25℃インキュベーター（BITEC400L, Shimadzu）内に設置し、注入と同時に、12時間点灯/12時間消灯のサイクルにて光照射（照度：4000lx）した。光の影響を把握するため、6回目注入時のみは、注入後12時間を暗条件、その後12時間を明条件とした。使用植物には、屋上・沿道緑化に用いられることの多い、イキダ（*Chrysanthemum pscificum*）、アジナ（*Ajuga reptans*）、メキシコマンネングサ（*Sedum mexicanum*）の3種を選択し、使用した。

2.3 分析方法

(1) 使用土壌諸元

使用土壌諸元の測定は下記の方法によった。使用土壌三相の算出には、真比重、仮比重、重量含水率を実測し、計算により求めた。真比重の測定には、100mL容積のピクノメーターを使用し行った。仮比重は、容積50mLのメスシリンダーに土壌を採取し、その重量を測定することにより求めた。重量含水率の測定には、赤外線水分計（FD-600, Kett）を使用した。本機器は、一定重量の試料が赤外加熱により失った重量から、重量含水率を測定するものであり、110℃・90分の測定条件にて運転した。DOCの測定に際しては、試料2gを採取し、超純水40mLを加え、40Wの出力にて10分間超音波分散した後、孔径0.45μmの濾紙（DISMIC, Advantec）にて濾過したものを全有機炭素分析計（TOC-500, Shimadzu）により測定した。VOCの測定は下水試験方法（1997）によった。

(2) 微生物群集解析

ガラスチャンパー試験終了時の土壌中細菌相はPCR-DGGE（Polymerase Chain Reaction – Denaturing Gradient Gel Electrophoresis）法により解析した。土壌サンプルはFast DNA Spin kit for soil（Qbiogene, USA）によりDNA抽出し、抽出したDNAに基づく微生物群集解析をPCR-DGGE法により行った。V3領域を対象としたPCRには、357f（*Escherichia coli* positions: 341-357, sequence: 5'-GC clamp-CCTACGGGAGGCGAGCAG-3', target: Bacteria）と518r（*E. coli* positions: 517-534, sequence: 5'-ATT ACCGCGGCTGCTG G-3', target: Bacteria, Archaea and Eucarya）のプライマーセットを使用した。PCR産物はDGGEに供するため、フォワードプライマーの5'末端にGC-clamp（40-bp GC-rich sequence, 5'-C GCCCGCCGCGCGC GGCG-GGCGGGGCGGGGGCACGGGG GG-3'）を付けた。温度条件はMuyzer *et al.*（1993）を参考とし、94℃：9分⇒（94℃：30秒⇒53℃：30秒⇒72℃：30秒）×30サイクル⇒72℃：5分の温度条件で、サーマルサイクラーにはGeneAmp9600（Applied Biosystems, USA）を用い、PCR反応を行った。

表1 バッチ実験設定条件

設定	使用土壌	条件	滅菌
1	A	黒ぼく土(1) 含水率 39.3%	無
	B	黒ぼく土(1) 含水率 45.1%	無
	C	黒ぼく土(1) 含水率 50.8%	無
	A*	黒ぼく土(1) 含水率 37.5%	有
	B*	黒ぼく土(1) 含水率 44.7%	有
	C*	黒ぼく土(1) 含水率 50.8%	有
2	A	黒ぼく土(2)	無
	B	黒ぼく土(2) + パーライト	無
	A*	黒ぼく土(2)	有
	B*	黒ぼく土(2) + パーライト	有
3	A	鹿沼土(1) + 黒ぼく土(2)	無
	B	鹿沼土(1)	無
	A*	鹿沼土(1) + 黒ぼく土(2)	有
	B*	鹿沼土(1)	有
4	A	鹿沼土(2) + 黒ぼく土(2)	無
	B	鹿沼土(3) + 黒ぼく土(2)	無
	C	鹿沼土(2)	無
	D	鹿沼土(3)	無

表2 使用土壌諸元

土壌	滅菌	固相	液相	空隙率 体積%	DOC	VOC
		(重量%)			mgC/g	乾土
黒ぼく土(1)	無	60.7	39.3	53.2	4.1	136
	有	62.5	37.5	51.7	18.5	
黒ぼく土(2)	無	57.3	42.7	55.4		132
	有	62.4	37.6	50.3		
パーライト	無	98.9	1.1	80.7	2.5	
	有	98.8	1.2	81.1		
鹿沼土	無	80.1	19.9	72.1		74
	有	80.1	19.9	77.2		

3. 実験結果及び考察

3.1 バイアル試験

図1に設定1におけるベンゼン(a)及びトルエン(b)のバイアル瓶気相濃度の経時変化を示した。注入時におけるガス濃度はいずれも10ppmであったが、20分後の測定時にはいずれのガスも4ppm以下となっていたことから、図1には5ppm以下の部分を示した。注入したガスの8割近くは注入後数時間にて土壤に吸着された。その後、滅菌土壤ではガスの減少が見受けられない。一方、非滅菌土壤ではガスの減少が見られ、ベンゼンではいずれの含水率でも24時間後には検出限界以下となった。トルエンはベンゼンに比べ濃度の振れが大きくなっており、48時間後の段階で検出限界以下となったのは、条件B（非滅菌・含水率44.7%）の場合のみとなっていた。しかし、非滅菌の他条件A,Cにおいても実験開始後144時間後には検出限界以下となった。一方、滅菌土壤では192時間後においても、トルエンの気相濃度は1A*: 1.1ppm、1B*: 1.2ppm、1C*: 0.8ppmとなっており、検出限界を上回っていた。注入ガスが極めて短時間で土壤吸着されることから、同条件下での再試験を行い、実験時間を2時間とし、5分間隔でサンプリングを行った。ベンゼンの結果のみを図2に示す。含水率ごと、滅菌の有無により初期吸着曲線には違いが見られるが、実験開始2時間後にはいずれの条件においても、2ppm前後で濃度が安定していることがわかる。

ベンゼンではガス注入後2時間で初期吸着が起こった後、滅菌土壤では変化が見られない一方、非滅菌土壤では土壤内微生物の働きにより、ガスの除去が起こることがわかる。また、含水率ごとには初期吸着速度に差は見られるものの、その後非滅菌土壤でのガス除去速度には大きな差は見受けられなかった。トルエンにおいては濃度の振れが大きく、ベンゼン程明確な傾向が見られなかったものの、非滅菌土壤では、初期吸着後のガスの除去が確認された。

パーライト混合の影響を見るため、設定2の条件で実験を行った結果を図3に示した。また、繰り返し曝露の影響を見るため、40時間後と88時間後にガスの再注入を行った。パーライトの有無にかかわらず、滅菌土壤では吸着、平衡の後ガス濃度に変化は見られない。一方、非滅菌土壤では、初期吸着後、ガスの分解除去が起こっていることが見受けられる。パーライトを混合した場合には、滅菌、非滅菌ともに初期吸着量の減少が見受けられた。非滅菌土壤における減少速度は黒ぼく土のみの場合と違いは見られなかった。ベンゼン、トルエンとも、非滅菌土壤では再注入を繰り返すごとに、初期吸着後の分解速度の増加が観察された。

鹿沼土を添加した設定3、4におけるベンゼンのみの結果を図4、5に示した。鹿沼土のみの場合には初期吸着後の減少が見られないのに対し、黒ぼく土と混合することにより、十分な減少が見受けられた。鹿沼土を添加することによる初期吸着量の増加はいずれの粒径においても確認されなかった。よって、軽量土のみの使用は、ガス除去の観点からは有効ではないと考えられる。黒ぼく土のみの場

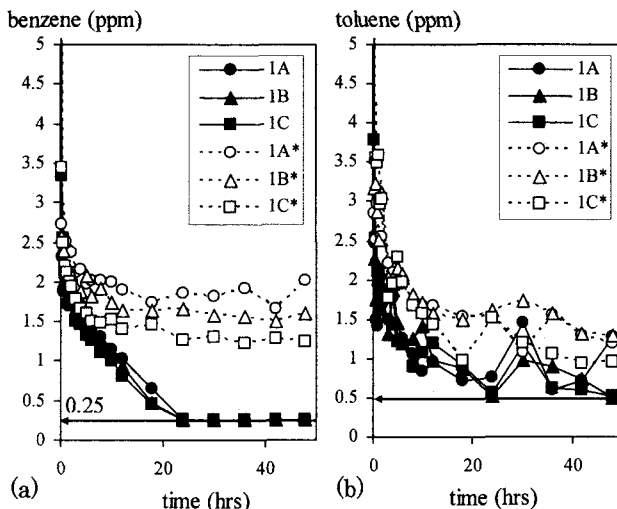


図1 含水率の違いによるガス濃度変化

(a)ベンゼン、(b)トルエン

←: 検出限界 (ベンゼン: 0.25, トルエン: 0.5)

A: 含水率低、B: 含水率中、C: 含水率高、*: 滅菌土壤

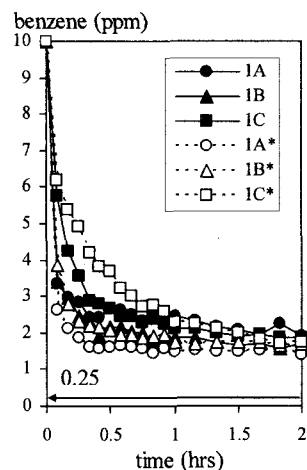


図2 ベンゼンの初期吸着

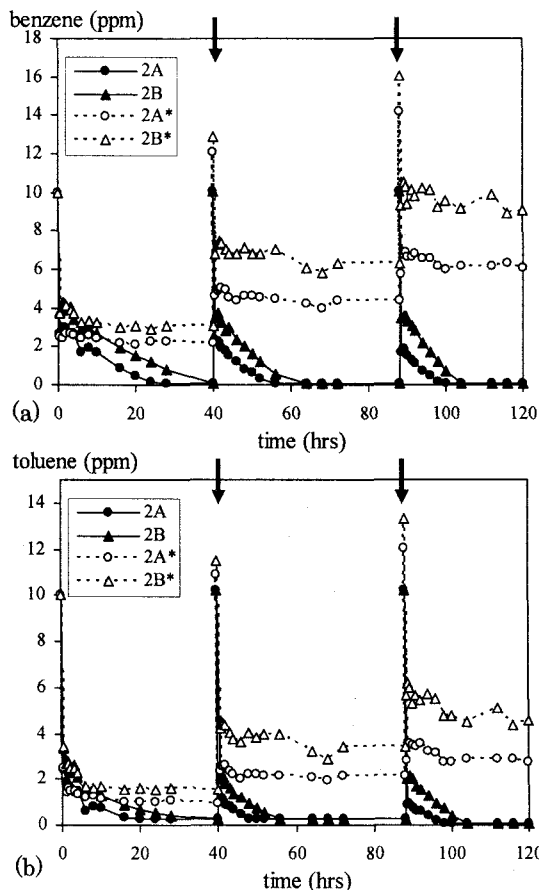


図3 パーライト混合に伴うガス濃度変化

(a)ベンゼン、(b)トルエン

A: 黒ぼく土のみ、B: パーライト混合、*: 滅菌土壌

合 (条件2A) には、ガス注入30分後のベンゼン気相濃度が2.7ppmであったのに対し、鹿沼土と重量比50:50で混合した場合 (条件3A) には30分後の濃度は5.1ppmとなっており、初期吸着量がむしろ減少することがわかる。しかし、黒ぼく土と共に使用することで、土壤微生物によるガス分解は十分可能であることが示された。

3.2 ガラスチャンバー試験

図6にチャンバー試験での気相ベンゼンの経時変化を、図7に各注入ごとのベンゼン減少速度を示した。1回目の注入においては、注入後24時間後に検出限界以下となったのに対し、注入を繰り返すことでいずれの条件においても減少速度が増し、検出限界以下になるまでの時間が短くなった。6回目の注入時には、より多量のガスを注入したにもかかわらず、土壌のみの系においても10時間後には検出限界以下となった。また、植物を添加した場合には、土壌のみの場合に比べ、ガスの減少速度が有意に大きくなっていた。特にヒソコメソコメ草を植えた系においてはその差が顕著であった。トルエンにおいても同様の傾向が見られている。また、暗条件にて注入を始めてもガスの減少には影響が見られなかったことから、植物自体の取り込みよりは、むしろ根圏の微生物活性が高められたことが、

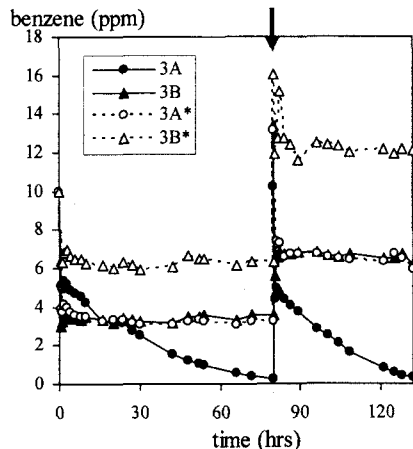


図4 微粒子鹿沼土混合に伴うガス濃度変化

鹿沼土粒径: 0.045~0.5mm

A: 黒ぼく土+鹿沼土、B: 鹿沼土のみ、*: 滅菌土壌

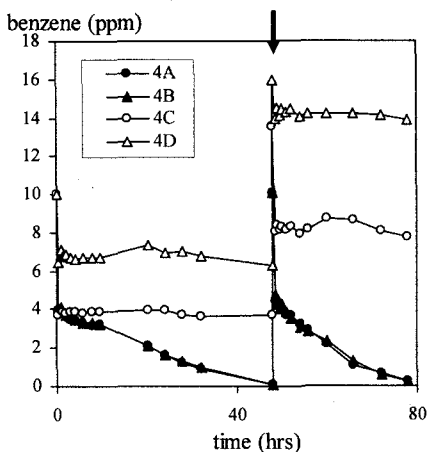


図5 粗粒子鹿沼土混合に伴うガス濃度変化

鹿沼土粒径: (2) 0.5~2.0mm, (3) 2.0~3.35mm

A: 黒ぼく土+鹿沼土(2)、B: 黒ぼく土+鹿沼土(3)、C: 鹿沼土(2)のみ、D: 鹿沼土(3)のみ

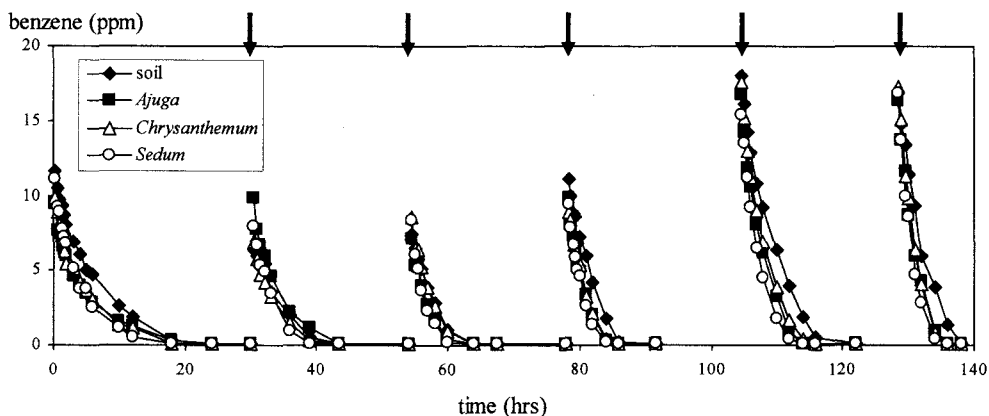


図6 チャンバー試験における気相ベンゼンの経時変化

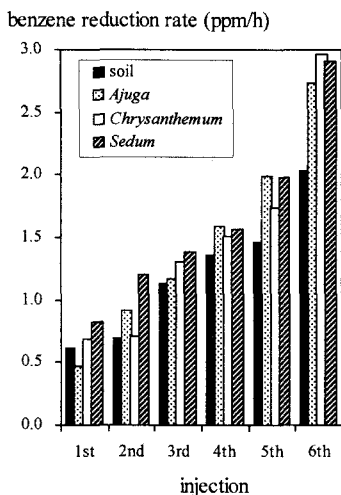


図7 ベンゼン減少速度変化

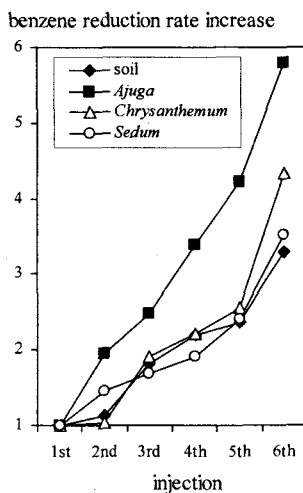


図8 ベンゼン減少速度の増加率

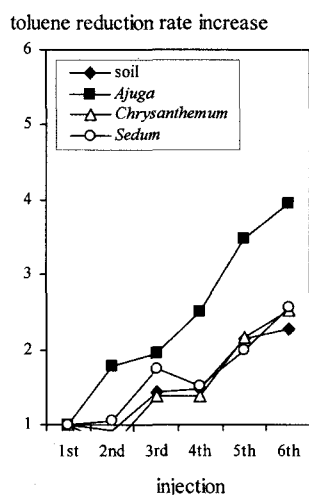


図9 トルエン減少速度の増加率

特に、ガスの減少に寄与したのではないかと考えられた。また、初回注入時の減少速度を1とした場合の減少速度増加率を図8、9に示した。土のみの場合にも、6回注入時にベンゼンで3.3倍、トルエンで2.3倍の増加が見られた。いずれのガスにおいても特に*アジュガ*での増加率が最も大きく、6回注入時、ベンゼンで5.8倍、トルエンで4.0倍の増加が見られた。

*セドム*を用いた系において、高いベンゼン・トルエン除去が見られたことから、*セドム*のみを用い、結果の再現性を確認すると同時に、含水率を上げた場合の影響を見た。条件としては、土のみを用いた場合、*セドム*を加えた系（含水率 42.7%）、*セドム*を加え含水率を上げた系（含水率 49.8%）の3つを設定し、上記同様実験を行った。気相ガス濃度の経時変化は、図6と同様の傾向を示し、特に含水率増加に伴うガス濃度の減少に違いは見られなかった。各条件におけるベンゼン減少速度の変化を図10に示した。図7の結果同様、注入を繰り返す度に除去速度が増加していることがわかる。*セドム* (1) における除去速度は4回目で1.6 ppm/hと図7での4回目の除去速度と同じ値を示した。含水率を上げた場合には、除去速度も増加が見られる。これは、含水率増加に伴う土壌微生物活性の増加が原因となっているのではないかと考えられた。

図11に6回注入後の各条件における土壌のPCR-DGGE結果を示す。植物の有無にかかわらず、同じ場所に限られた数のバンドが見受けられることがわかる。植物自身のガス吸収効果も無視はでき

ないが、植物が存在することにより根圏の微生物活性が高められることが、ガス除去効果への植物の寄与として大きかったのではないかと考えられる。

4 回目のベンゼン除去速度 1.6 ppm/h を吸収フラックスに換算した場合、チャンバー気相部体積が 13.5 L、土断面積が 648 cm²、温度 25℃であることから、0.11μg/cm²・h と算出される。Collins *et al.* (2000) はキュウリ等の園芸野菜を 0.3 ppm のベンゼンに曝露させ、その吸収及び植物体内への蓄積を示しており、植物体自身のベンゼン吸収効果を示している。しかし、Oyabu *et al.* (2003) はポトスを用いた大気中のガソリン除去試験を行っているが、高濃度ではその効果は少ないとしている。彼らの試験では鉢植えポトスを用いており、本試験のように土壌を敷き詰めたチャンバーでは、土壌への初期吸着効果が大きく、植物体が存在することによる根圏微生物活性化効果が相乗的に示され、高濃度においてもその除去効果が十分発揮されたと考えられる。

細菌によるベンゼンやトルエンの好氣的分解に関しては、Jindrova *et al.* (2002) がその経路を示しており、dioxegenase と monooxygenase による二つの経路を示している。また、分解を担う細菌としては、Greene *et al.* (2002) がベンゼンやトルエンを投入した条件での細菌群集解析を行っている。そこでは、主に *Pseudomonas putida* や *P. stutzeri* 等、一般環境に存在している *Pseudomonas* 属の細菌がベンゼン及びトルエン添加条件下で検出されており、これらの細菌群が本研究にてもメインで働いていた可能性が考えられる。

4. 結論

高濃度のベンゼン及びトルエンガスに対し、バイアル瓶及びガラスチャンバーを用いた試験を行った。ガスの除去は初期の土壌吸着とその後の土壌中微生物による生物分解の二段階からなり、パーライトや鹿沼土といった軽量土のみでは生物学的分解段階をもたらすことはできず、黒ぼく土の使用が有効と考えられた。植物の存在は有意な効果をもたらしたが、主に植物が存在することによる根圏微生物の活性化が原因ではないかと考えられた。本研究はあくまで高濃度ガスを用いたポテンシャル評価に留まっており、今後、実環境に近いより低濃度のガスを用いた評価を行うことが求められる。

引用文献

- Collins, C.D. *et al.*, 2000, *Chemosphere*, 40, 109-114.
 Greene, E.A. *et al.*, 2002, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 40(3), 233-241.
 Ho, K.F. *et al.*, 2004, *Sci. Total Environ.*, 322, 155-166.
 Jindrova, E. *et al.*, 2002, *Folia Microbiol.*, 47(2), 83-93.
 Muyzer, G. *et al.*, 1993, *Appl Environ Microbiol.*, 59(3), 697-700.
 Oyabu, T. *et al.*, 2003, *Int. J. Phytoremediation*, 5(3), 267-276.
 Srivastava, P.K. *et al.*, 2000, *Sci. Total Environ.*, 255, 161-168.

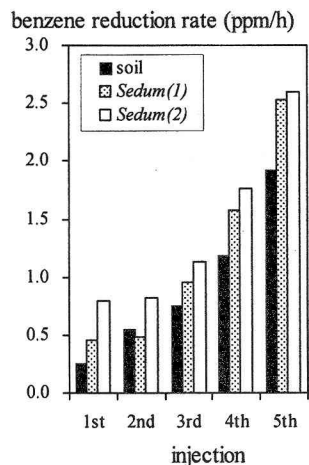


図 10 メキシコマンネングサを用いたチャンバー試験におけるベンゼン除去速度変化
 Sedum(1): 含水率 42.7%, (2): 含水率 49.8%

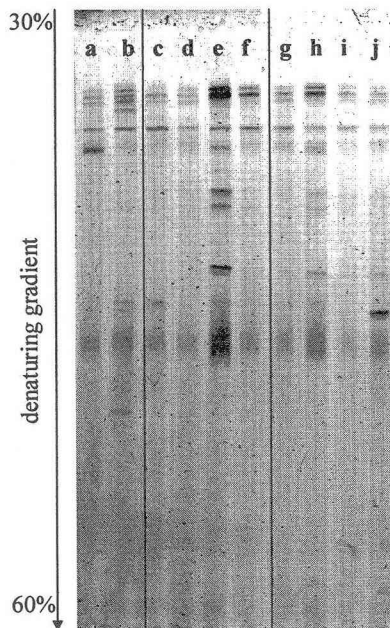


図 11 曝露土壌の PCR-DGGE 結果

- a: アシロガ表土
 b: イソギク表土
 c: メキシコマンネングサ表土(1)
 d: メキシコマンネングサ表土(2)
 e: メキシコマンネングサ 5cm 深土壌(1)
 f: メキシコマンネングサ 5cm 深土壌(2)
 g: 土のみ 5cm 深土壌(1)
 h: 土のみ 5cm 深土壌(2)
 i: 土のみ表土(1)
 j: 土のみ表土(2)