

熊本大学平成15年度発足「拠点形成研究B」

平成18年度報告書

## 水環境汚染物質の動態評価研究拠点の構築

平成19年 4 月

拠点リーダー  
自然科学研究科・教授  
安部眞一

拠点サブリーダー  
自然科学研究科・教授  
古川憲治

熊本大学平成 15 年度発足「拠点形成研究 B」

平成 18 年度報告書

## 水環境汚染物質の動態評価研究拠点の構築

平成 19 年 4 月

拠点リーダー  
自然科学研究科・教授  
安部眞一

拠点サブリーダー  
自然科学研究科・教授  
古川憲治

## 研究の目的

本拠点形成では、地球規模での省資源・持続・循環社会の実現において中核となる環境科学の分野で画期的な貢献をするために、熊本大学の立地条件に配慮し、緊急性の高い水環境汚染物質の動態評価研究拠点の構築を目指す。とくに、環境悪化の原因とメカニズムが不明のまま疲弊状態にある有明・八代海の再生修復への貢献を念頭に置き、環境ホルモンなどの環境汚染物質の生物モニタリング科学創成、沿岸域における栄養塩除去などに有効な環境汚染物質のバイオ・レミディエーションの科学技術研究の展開、陸水と海水に跨る沿岸域水循環の計測・解析・評価手法の高度化と応用、微量で多様な環境汚染物質の高精度定量手法の開発と応用などの先導的研究を推進する。また、これらの研究を通じて総合的な研究能力と高度な洞察力を有する創造性豊かな人材を育成するとともに、環境産業創成に貢献する。

## 共同研究者

### (A) 環境汚染物質の生物モニタリング

安部眞一・自然科学研究科・教授  
滝尾 進・沿岸域センター・教授  
逸見泰久・沿岸域センター・教授  
北野 健・自然科学研究科・助教授

### (B) 環境汚染物質のバイオ・レミディエーション

古川憲治・自然科学研究科・教授  
木田健次・自然科学研究科・教授  
川越保徳・自然科学研究科・助教授  
森村 茂・自然科学研究科・助教授

### (C) 沿岸域水循環の評価

嶋田 純・自然科学研究科・教授  
滝川 清・沿岸域センター・教授  
小池克明・自然科学研究科・教授

### (D) 微量環境汚染物質の定量

城 昭典・自然科学研究科・教授  
河原正泰・自然科学研究科・教授

※平成18年4月改組により、旧理学部、工学部所属の教員は大学院自然科学研究科所属になりました。

## 目的に対する進捗状況

下記に示すように、各グループでの進捗状況は顕著であり、事業推進担当者相互の有機的連携も深まりつつあるので、順調に発展していると考えられる。

### (A) 環境汚染物質の生物モニタリング

- ・河川や海に存在する内分泌攪乱物質を総合的に評価できる生物モニタリングシステムの開発をめざしているが、これまでに男性ホルモン(アンドロゲン様物質)を評価するための高感度な *in vitro* モニタリングシステムの開発に成功しており、予定通りの進捗状況である。
- ・有明海・八代海の生態系の把握を通して、生物多様性の維持機構を解明すること、水産資源の持続的利用システムを開発することを目的としている。これまでに、タイラギ・ハマグリ・ミドリシャミセンガイ・ナメクジウオなどを対象に多くの種類で幅広い研究を行うことができ、その成果を学会誌や学会講演だけでなく、マスコミなどを通して広くアピールした。さらに、昨年度発表した論文(ナメクジウオの個体群研究)に対し日本動物学会論文賞を受賞することができた。
- ・沿岸域水環境モニタリングのための形質転換スサビノリを作出する第一歩として、スサビノリの色調形成に関与する遺伝子を分離し、それらの発現調節機構を明らかにすることを目指している。これまでに、培地中の主要な重金属であるマンガンや亜鉛の欠乏では葉状体赤色化はおこらず、鉄欠乏に特徴的であることが確認できている。
- ・有明海・八代海沿岸域における生物多様性とその遺伝的変異を解明することを目的としている。これまでに、アマモ集団内における遺伝的変異と繁殖様式の概略を把握することができている。

### (B) 環境汚染物質のバイオ・レメディエーション

- ・集積に成功した嫌気性アンモニア酸化(Anammox)汚泥を活用して、これまでに全く報告されていない新規な窒素自法を開発することを目的として研究を実施している。現在、501 の容量の Anammox カラム・リアクタまでスケールアップに成功している。PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床でも、カラム・リアクタと同程度の処理能力のあることを確認しており、今後高い濃度の窒素排水処理への適用が期待されている。Anammox に先立つ部分亜硝酸化に関しては、汚泥付着能力に優れた網目状のアクリル製繊維担体を充填したリアクタを構築し、部分亜硝酸化処理条件を実験的に決定した。その長期安定性を検討する中で、一槽でアンモニアを除去できる SNAP 法を開発することができ、大きな成果に結びついている。
- ・生分解性プラスチックである PHB を活用する硝酸性窒素に汚染された地下水の浄化

を目的に研究を行っている。PHB を充填した土壌カラム・リアクタによる硝酸性窒素除去の連続処理試験を行い、リアクタ内の窒素の挙動と関与細菌に関する基礎的知見を得ることができ、今後の進展が期待されている。

- ・有機物濃度の高い廃水・廃棄物をメタン発酵によるサーマルリサイクルやバイオテクノロジーを駆使してリサイクルするプロセスの確立により、環境負荷の軽減を図ることと、疲弊した干潟の菌叢解析を通じ、干潟の浄化能を再生することを目標とすることを目標に研究を進めている。これまでに、家畜糞尿および生ゴミ混合物のメタン発酵によるサーマルリサイクル法を確立するとともに、大豆煮汁からの機能性食品の製造およびメタン発酵による有効利用技術の開発に成功している。また、干潟環境の改善方法の一つとして実施されている干潟耕耘が干潟底質微生物群集に対する影響を解析し、干潟底質中には、硫黄酸化細菌と硫酸塩還元細菌が共存しており、硫黄代謝を伴う有機物分解サイクルを形成している可能性を明らかにしている。

### (C) 沿岸域の水環境の評価

- ・九州地域の水循環プロセスに関して、環境同位体手法と物理的な観測およびシミュレーション等を適宜併用することにより、降水・蒸発散・土壌浸透・地下水流動・海底地下水湧出等のプロセスの実態把握とその要因の解明、及びそれらに基づく地域の水循環・水賦存特性の評価を行うことを目標に研究を進めている。これまで一つの降雨イベントに関しては、森林植生域では樹幹流の影響により、降水中の安定同位体比が他の土地利用地域と異なる可能性を明らかにしている。この結果は、これまでその存在が軽視されてきた樹幹流の定量評価研究として十分な価値が認められている。
- ・環境悪化の原因とメカニズムが不明のまま疲弊状態にある有明・八代海をモデルとし、海域環境の複雑なメカニズムを物理的、化学的、生物的に多側面から研究し、環境変化の評価・予測システムの構築を行うこと、海域環境保全と維持方策についての現地実証実験・開発研究とともに、海象災害の評価・予測システムの構築を行い、環境と防災とが調和した環境保全の理想像を創出することを目的として研究を進めている。有明・八代海の環境と防災にかかわる総合研究を推進するに当たって、過去のデータの収集と分析、現地での観測調査によるデータ収集、数値シミュレーション手法の開発と適用、干潟環境回復のための現地実証実験、および海域環境の回復・維持方策についての行政への提言等、積極的に推進・展開をおこなった。
- ・水源から有明海までの流域圏における水理構造の全体像を解明するとともに、水域環境を広域的にモニタリングし、データの数理解析によって環境の時間的・空間的变化を詳細に明らかにすることで、水域環境に影響を及ぼす要因を特定することを目標に研究を実施している。この目標達成のために、次の3つのサブテーマを設定している。

①リモートセンシングによる広域水域環境の定量化法の確立、②水域環境データの時空間分布のモデリング法の確立、③地磁気－地電流法による浅部から深部に至る水理構造の解析法の確立。3つのサブテーマともに平成15年度の問題点に対処し、新たな手法を提案するとともに、妥当な解析結果や測定データを増やすことができた。高層気温・湿度を考慮した放射熱伝達理論から、海面温度推定に関する考察も深められた。これらの観点からは、前述の平成16年度の目的・目標に関してほぼ達成できたと考えている。

#### (D) 微量環境汚染物質の定量

- ・吸着速度が迅速なキレート性繊維を用いる低濃度の有害イオンで汚染された水の高速浄化技術を開発することを目的として、研究を実施している。リン酸やヒ酸の陰イオン種に高選択性を示す吸着剤は、これまで硬い Lewis 酸に属する金属イオン(Fe(III)、Zr(IV)など)を担持したイオン交換樹脂やキレート樹脂を用いる配位子交換機構でのみ実現されてきた。本研究で開発した新規の弱塩基性陰イオン交換繊維は、リン酸ならびにヒ酸の吸着において塩化物イオン、硫酸イオンの妨害の少ないはじめの純有機系イオン交換体である。また、吸着速度も従来の粒状樹脂より格段に迅速で、吸着操作に要する時間を従来の樹脂充填カラムの1/100まで短縮できる新しい知見を得ている。
- ・水の中の有害金属元素および有害無機陰イオンの定量と固定ならびに除去、廃棄物からの有害金属元素の水への溶出防止、廃棄物に含まれる金属元素の分離・回収を目的として研究を進めている。現在その処理が問題となっている焼却飛灰ならびに熔融飛灰を酸浸出して無害化し、同時に金属元素を回収する第1段階としての浸出処理についての新しい知見が得られている。

平成18年度博士後期課程学生数

	進学生	留学生	社会人	H19 入学者数
安部眞一	1	4	5	3
瀧尾 進	0	1	0	0
逸見泰久	2	0	1	0
古川憲治	0	6	1	1
木田健次	1	0	1	2
川越保徳	2	0	0	0
嶋田 純	1	1	0	2
滝川 清	0	0	2	2
小池克明	0	4	2	2
城 昭典	0	1	2	0
河原正泰	0	0	1	0
計	7	17	15	12

## 平成18年度の研究経費使用実績報告

拠点B研究経費（500万円）

研究経費内訳	金額（千円）	積算内訳	
設備備品費	0		0
人件費	769	私費留学生補助 （博士@200*4, 修士@100*3）	769
共同研究	2,500	グループ間共同研究費支援費  研究課題：「リモートセンシングを用いた養殖ノリのモニタリング技術の開発」, 「電気探査による有明海・八代海の海底表層地質分布と地下水湧出現象のイメージング」, 「塩性湿地の再生を目的とした塩性植物の繁殖生態と個体群間の遺伝的類縁関係の解析」他	3,011
旅費	0		0
事業推進費	0		0
その他	1,731	院生の国際会議発表補助（@10*11） 報告書印刷代（平成17年度分）	1,100 120
合計	5,000		



## この拠点研究に関連した外部資金の獲得状況

(科学研究費補助金、他省庁・研究助成法人・民間企業からの研究費等)

### 安部眞一

- ・ 科研費 基盤研究(B), 2006-2008年, 550万円(平成18年度分)  
「精子分化における新規パラクリン因子ニューレギュリンの機能」
- ・ 科研費 萌芽研究, 2005-2006年度 130万円(平成18年度分)  
「体細胞に対する減数分裂の誘導」

### 北野 健

- ・ 科研費 特定領域研究(公募研究), 2005-2007年, 410万円(平成18年度分)  
「温度依存性性決定の分子メカニズム」
- ・ 科研費 若手研究B, 2005-2007年, 140万円(平成18年度分)  
「メダカにおける性転換変異体の解析による雌化機構」
- ・ 受託研究(アークリソース(株)), 2005-2007年, 100万円(平成18年度分)  
「魚類始原生殖細胞の増殖および分化誘導に関する研究」

### 滝尾 進

- ・ 科研費 特定領域研究「葉緑体の増殖制御機構と遺伝子発現調節による植物の高次機能発現」(平成16~20年度, 分担)

### 逸見泰久

- ・ 大学等開放推進事業(Jr.サイエンス事業), 2006年, 30万円, 一般公開実習  
「海のいきものを知る」
- ・ 政策創造研究センター・プロジェクト研究, 2006年, 200万円, 有明海・八代海の生物棲息環境の評価・保全・再生

### 木田健次

- (1) 受託研究(NEDO)、2006年、9,528,750円、バイオマスエネルギー高効率転換技術開発／バイオマスエネルギー先導研究開発／都市型バイオマス資源からの高効率二段発酵による燃料用エタノール製造技術の開発
- (2) 受託研究((株)りゅうせき)、2006年、7,692,543円、環境省 平成18年度地球温暖化対策技術開発事業(沖縄産糖蜜からの燃料用エタノール生産プロセス開発及びE3等実証実験／沖縄産糖蜜の適用性等に関する研究開発)

- (3) 受託研究（九州沖縄農業研究センター）、2006年、4,000,000円、林産残さ、食品残さ等未利用バイオマスの循環・利用システムの開発
- (4) 受託研究（九州沖縄農業研究センター）、2006年、3,000,000円、南九州畑作地域におけるゼロエミッション型カスケード利用システムの開発
- (5) 科学技術振興調整費（熊本大学代表：滝川先生）、2006年、7,033,800円、底質機能の微生物学的評価と改善技術の検討
- (6) 科研費、2006年、1,900,000円、天然ホルモン除去を含む家畜糞尿・生ごみ混合物の高効率サーマルリサイクル技術の開発
- (7) 科研費、2006年、1,600,000円、焼酎蒸留廃液有効利用のための抗腫瘍活性成分の解明
- (8) 科研費、2006年、900,000円、焼酎粕および焼酎粕から製造した醸造酢が有するマウス固形腫瘍の増殖抑制機序の解明
- (9) 共同研究（瑞鷹(株)）、2006年、2,700,000円、ゼロエミッション焼酎・健康酢製造技術の実証と事業化
- (10) 共同研究（(株)バイファ）、2006年、2,150,000円、廃酵母廃液処理方法の検討
- (11) 共同研究（南国興産(株)）、2006年、872,000円、有機性廃棄物のサーマルリサイクルに関する研究
- (12) 共同研究（北海道農業協同組合中央会）、2006年、900,000円、農産物からのバイオエタノール生産システムの構築
- (13) 共同研究（東京瓦斯(株)）、2006年、1,530,000円、発酵に関する共同研究
- (14) 寄付金（南国興産(株)）、2006年、1,800,000円
- (15) 寄付金（(財)アルコール協会）、2006年、947,652円
- (16) 寄付金（くまもとテクノ産業財団）、2006年、950,000円、生ゴミの鮮度保持技術およびその利活用技術の開発
- (17) 寄付金（九州電技開発(株)）、2006年、900,000円
- (18) 寄付金（新日鉄エンジニアリング(株)）、2006年、900,000円

古川憲治

#### <科研費>

基盤研究(B)(1)代表：部分亜硝酸化と Anammox の組み合わせによる新規窒素除去プロセスの開発、平成 18 年度 410 万円、平成 16 年～18 年

**<環境省廃棄物処理等科学研究費補助金>**

バイオガス化プラント排水中の高濃度アンモニアの MAP-ANAMMOX ハイブリッド  
処理技術の開発、平成 18 年度 2,730 万円、平成 18 年～20 年

**<共同研究>**

荏原環境エンジニアリング(株) 190 万円

(株)タクマ 150 万円

**<奨学寄附金>**

アサヒビール株式会社、100 万円

株式会社 クラレ、100 万円

オルガノ株式会社、100 万円

日立プラント株式会社、50 万円

川越保徳

- ・西田鉄工研究基金，2005-2006 年，110 万円，生分解性プラスチック資化性脱窒細菌の集積・分離と硝酸性窒素除去への利用に関する研究

嶋田 純

**<科学研究費>**

科研費基盤 (B)(2) 平成 16-18 年度 廃棄物処分に関わる安全性検討のための沿岸地圏域地下水流動システムの探査技術開発. 徳永朋祥 (代表)、六川修一、嶋田 純、大久保泰邦、20000 千円

科研費 基盤研究(B)(海外学術調査) 平成17-19年度 東アジア沿岸域における地下水流出に伴う炭素・栄養塩類負荷量の評価. 谷口真人 (代表)、蒲生俊敬、徳永朋祥、宮岡邦任、張 勁、嶋田 純、小野寺真一 8900千円

科研費 基盤研究(C)平成17-19年度 マルチ・トレーサー手法による流域水・物質循環プロセスのモデル化に関する研究. 辻村真貴 (代表)、嶋田 純 3500 千円

科研費 基盤研究(A) 平成17-20年度 異常間隙水圧層の発生・上昇メカニズムと広域地下水流動、自然災害に及ぼす影響 田中和広 (代表)、宮田雄一郎、千木良雅弘、徳永朋祥、今岡照喜、中田英二、嶋田 純、金折裕司、石田 毅、馬原保典、38600 千円

### <その他の研究費>

都城市受託研究費 2006年度、代表 500千円、『都城盆地の地下水流動・循環機構解析』

総合地球環境学研究所 2006年度共同研究、分担 40800千円、『都市の地下環境に残る人間活動の影響』

原子力環境整備促進・資金管理センター 地層処分重要基礎技術研究調査 2004-2006年度 15000千円 『堆積岩地域における塩淡境界に関する研究』 徳永朋祥（代表）・嶋田 純（分担）

資源・素材学会、深部地質環境調査解析技術体系化委員会 受託研究 『地下水の地球化学的調査に関する研究』、分担 850千円

戦略的基礎研究推進事業経費, 2001-2006年度, 『北東アジア植生変遷域の水循環と生物・大気圏の相互作用の解明』, 杉田倫明（代表）ほか、分担, 255017千円

核燃料サイクル機構先端基礎研究助成 平成17-19年度 塩素安定同位体比を用いた水理地質構造モデル評価技術の開発. 徳永朋祥（代表）、嶋田 純、井尻裕二、小野誠、 9000千円

### <委任経理金>

2件 (1200 千円)

小池克明

- ・科学研究費 基盤研究 B（代表）：6,400 千円
- ・日本原子力研究開発機構 先行基礎工学研究（代表）：3,000 千円
- ・(財)日本鉱業振興会試験研究（代表）：700 千円
- ・熊本大学工学部科学研究助成 地域連携（代表）：1,000 千円
- ・寄附金：民間企業・(社)資源・素材学会より、計 3,650 千円
- ・共同研究費：国立極地研・京都大学防災研（分担）、計 250 千円

滝川 清

#### ①日本学術振興科学研究費補助金

- 1) 滝川清（熊大代表）. 文部科学省科学技術振興調整費:重要課題解決型研究, 「有明海生物生息環境の不俯瞰型再生と実証試験（18年度 104,000千円）.

#### ②奨学寄付金

- 5件 3,639,168円（沿岸域環境科学教育研究センター・教授；滝川 清）

③共同研究

- 1) 滝川清. (アジアプランニング株) 平成 8〜継続中. 420 (千円)/年. 「有明海域における自然環境の評価と保全に関する研究」.
- 2) 滝川清. (開成工業株式会社). 平成 8〜継続中. 420 (千円)/年. 「陸水流入に伴う有明海域の物質流動とその制御」.

城 昭典

- (1) 三井金属鉱業株式会社との共同研究, 2006年, 200万円, 濃厚金属塩溶液中の微量フッ化物イオンの除去を目的とする高機能選択吸着剤の開発に関する研究
- (2) 財団法人鉄鋼業環境保全技術開発基金, 2006年, 141万円, 亜鉛イオンを高速で吸着する二官能性キレート繊維による亜鉛汚染水の浄化

## 平成19年度の研究計画概要について

### (A) 環境汚染物質の生物モニタリンググループ

#### ・魚や有尾両生類を用いた環境モニタリング

来年度は、環境要因(水温など)が及ぼす生物への影響及び作用機構を明らかにすることにより、環境汚染物質のモニタリングシステムをさらに発展させ、生物が生育する環境を総合的に評価できる生物モニタリングシステムの開発をめざす。また、イモリ精巢のプロラクチンによるアポトーシスの機構について、リガンドがどのようにして受容体を活性化するのか、細胞内でどのようにシグナルが伝わるのか、死の実行過程はどのようなものか、について調べる。さらに、環境毒性物質の精子形成に対する影響について精巢培養系を用いて調べる。

#### ・スサビノリによる環境モニタリング

1. スサビノリ色調変化の分子機構解明：ラン藻での研究を参考にしてスサビノリの葉緑体遺伝子Ycf18を色落ち誘導遺伝子と推定し各種ストレス応答について調べてきたが、平成18年度の研究によりYcf18はラン藻とは全く異なりアンモニア同化に関与する可能性が生まれた。しかし、フィコエリスリンと共転写することからYCF18がフィコビリソームの合成や分解に関与する可能性も残されている。そこでYcf18が窒素代謝に関与しているのかを明らかにするために、1) 各種窒素源でのYcf18遺伝子の発現応答を調べ、Ycf18の応答がアンモニアに特異的であるかどうかの検証、2) 各種培養条件の葉状体より葉緑体を単離してYcf18タンパクの局在部位の決定、3) Ycf18の機能解析のために、単細胞紅藻の葉緑体形質転換法を参考にしてYcf18欠損変異体の作出の試み、を行う。

2. スサビノリのリモートセンシング：スサビノリ葉状体の微弱な重金属ストレスへの応答を感知することが可能であることが平成18年度までに明らかになった。平成18年度には、糸状体は葉状体よりも重金属ストレスに対して敏感であることが示唆された。そこで、本年度は糸状体による環境モニタリングへ利用の可能性を探るために、糸状体を用いて銅以外の各種重金属添加によるフィコビリソーム分解過程を調べる。

政策創造研究を継続し、成果をあげる。「生物多様性の保全」では、特に八代海北岸と塩屋海岸周辺で調査を行い、ミチゲーションのための基礎データを収集する。「水産資源の持続的利用」では、ハマグリの研究を継続し、資源管

理に必要な基礎データを収集すると共に、熊本県・市や漁協と頻繁に協議を行って合意形成に基づく資源管理策を開発する。「環境に調和した防災と開発」では、八代海において移植した塩性湿地と貝類のモニタリングを継続すると共に、熊本市塩屋地区（有明海）の海岸埋め立てに対するミチゲーション技術を確立する。

## (B) 環境汚染物質のバイオ・レメディエーショングループ

これまで行ってきた研究で嫌気性アンモニア酸化（Anammox）反応が、優れた能力を有し、この反応を利用すれば、閉鎖性水域の汚濁の原因となる窒素を極めて低コストで処理可能となることが判明した。そこで、最終年度ではこれまで実施してきた一連の研究の最終段階として、実排水を対象に、Anammoxに先立つ部分亜硝酸化処理、この部分亜硝酸化処理した排水を対象とするAnammox処理に関する研究を実施する。具体的には、揺動床リアクタによる部分亜硝酸化処理を、バイオガスプラント脱離液、都市下水処理場汚泥脱離液を処理対象として実施し、部分亜硝酸化処理に及ぼすBOD濃度、pH、アルカリ度の影響を明らかにするとともに、許容 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度を明らかにする。バイオガスプラントからの脱離液には微細なSSが含有され、沈殿除去できないために、後段のAnammoxリアクタへの影響が懸念されるので、凝集処理、浮上分離処理の適用を検討する。SSを除去した部分亜硝酸化処理水を処理対象に、不織布を充填したAnammoxカラムリアクタでの連続処理試験を行い、その許容窒素負荷量を明らかにする。

これに加えて、研究室で新規に開発した一槽で部分亜硝酸化処理とAnammox処理が可能なSNAP法について、電子工業排水の処理水でBOD、SS濃度の低い排水を処理対象にそのスケールアップ、処理能力等の検討を加える。

これらの研究を通して、Anammox反応が窒素除去に極めて有効であることを実証し、世界に向けて熊本大学からAnammox関連情報を発信する計画である。

- ・ 18年度において、PHB資化性脱窒細菌K2F株の単離・同定を検証し、その硝酸還元能力の確認、および半連続実験による硝酸還元除去技術の予備検討が良好であったことから、平成19年度は、これらの結果を踏まえて、PHBを炭素源とする連続硝酸還元処理方法の基礎を確立する。特に、微生物固定化担体などを活用することで、K2F株を高濃度に集積し、さらにPHBを炭素源として供給できるリアクタシステムを構築してPHBを炭素源および電子供与体として用いる高速で低コストの連続硝酸性窒素除去技術の構築にむけて研究を進める。

- ・環境負荷となっている様々な有機系廃棄物の成分に応じて、メタン発酵やエタノール発酵を利用した有効利用技術の開発を継続して検討し、環境産業の発展につながるトータルプロセスの構築を行う。また、食品製造や醸造工程から排出される有機系バイオマスから機能性食品を製造し、製造した食品の生理活性や作用機構を明確にすることで高付加価値化を目指す。これらの技術を確立し、従来の中間処分→埋立処分といった既存の処理技術から利活用技術への変換を図ることで、陸上負荷の軽減および地球温暖化防止に貢献する。また、グループCに対しては、実際の干潟における酸化還元状態と微生物が中心となって形成される硫黄サイクルの関係を明らかにし、悪化する干潟環境の改善策の開発に貢献できる微生物学的手法を利用した技術を確立する。

### (C) 沿岸域の水環境の評価グループ

- ・水循環プロセスを追跡するツールとして、これまで本拠点研究を含む当研究室にて利用してきた手法は、空間とレーザーとしての水素・酸素安定同位体比と時間トレーサーとしてのトリチウムおよび炭素14であった。これらの手法を用いることで、基盤岩中の3次元的な広域地下水流動の解明や樹幹流の流出に与える影響の定量化などに成功してきたが、近年の降水中のトリチウム濃度低下は、年代評価手法としてのトリチウム法がそろそろ限界に近い状況をもたらしており、本拠点研究および関連する研究プロジェクトの枠組みの中で、この手法に変わる新たな水循環の年代測定手法として水中のフロン化合物(CFCs)を用いた手法の開発にH18年度から着手した。H18年度の成果として、CFCs法による地下水年代測定システムが確立されたので、H19年度はこの手法を本拠点研究や関連する受託研究、他研究機関との共同研究等を通して国内および海外の地下水に適応し、その測定事例を増やしてゆくことで、本手法の有効性と限界を見極めてゆく予定である。
- ・代表的な閉鎖的内湾であり、広大な干潟と大潮位差など独特の自然環境にある有明海・八代海では、近年の生物相の変化とその種の激減、赤潮の多発、水質・底質の悪化など、急激な環境悪化の悪循環(負のスパイラル)に陥っているものと懸念され、海域環境の回復と再生に関する科学研究の実施とともに、その再生維持対策が緊急を要する国家的課題である。また、この海域は台風・高潮等の常襲地帯でもあり、海象災害に対する安心・安全性確保のための対策が不可欠な地域でもあり、二律相反した“環境と防災”の調和に関する早急な学術的・技術的対応を、緊急かつ積極的に行わねばならない。このような、閉鎖性の高い有明・八代海の環境は、気象・海象・地象の環境構成要素に生態系が加わり、さらに内陸からの人為的影響を大きく受ける複



雑な因子に支配される環境系にある。従って、この海域における環境変動のメカニズムの解明に際しては、広範な分野からの学際的・総合的研究体制とともに、環境の再生維持にあたって、その方策の策定・実施・管理の上からも、省庁・行政の枠を超えた、産官学による総合的な推進体制が不可欠である。

本研究は環境悪化の原因とメカニズムが不明のまま疲弊状態にある有明・八代海をモデルとし、海域環境の複雑なメカニズムを物理的、化学的、生物的に多側面から研究し、環境変化の評価・予測システムの構築を行うとともに、海域環境の改善策や内陸からの人為的負荷の削減技術開発など、海域環境保全と維持方策についての現地実証実験・開発研究とともに、海象災害の評価・予測システムの構築を行い、環境と防災とが調和した環境保全の理想像を創出することを目的とする。これにより21世紀における持続可能な地域社会形成のための科学的展開を図るものである。

- ・最終年度の19年度においても、環境、防災（減災）、環境と防災の調和、安心・安全で生き活きた地域社会づくり、を目標として引き続き、積極的な研究展開、政策策定指導などを継続する。特に、17年度に採択された超大型研究プロジェクト（文部科学省の科学技術振興調整費「有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証実験」）研究を中心に「有明海・八代海の再生」をテーマに、各研究グループとの有機的連携の下、積極的な研究展開を行う。

- ・リモートセンシングに関して以下の研究を実施する。

#### 1) 衛星リモートセンシング：

- ・衛星画像解析によって表層物質の変化が地下水位に及ぼす影響、および地下水流動パターンの時間的変化を明らかにする。
- ・干潟試料の反射スペクトル測定から得られた結果を用い、LANDSAT画像やTerra/ASTER画像データの解析を進展させ、干潟堆積物の地質環境の時間的・空間的変化を明らかにする。
- ・海水や河川水における代表的な環境因子の時空間分布を、衛星画像から精度高く抽出できる手法を考案する。

#### 2) 数理モデル：

- ・多変量地球統計学によって地下水位の時間的変化を詳細に明らかにするとともに、インバージョン解析を用いて透水係数の分布を求め、現地計測からその妥当性を検証する。
- ・透水性に関連する地質体の構造の空間モデリングを進展させ、これに鉱物分布や変質帯を重ね合わせることで物質移行のパターンや時間的変化を考慮で

きるようにする。

### 3) 地磁気－地電流計測：

- ・MT法により熊本平野周辺の地下構造推定を進め、涵養域から流出域までの地下水系において、特に断層の存在の影響を明らかにする。さらに、海底電気探査の測線を追加し、海底に湧水する地下水の経路を比抵抗分布から詳細に推定するとともに、比抵抗分布の精度を向上させるために測定データのインバージョン解析法を改良する。

### ◎水循環グループ内の有機的連携

- ・有明海・八代海での電気探査による海底湧水現象についての共同研究。  
水質のデータと組み合わせ、海底湧水が水質に及ぼす影響を明らかにする。また、測線を追加して、海底湧水の経路をさらに詳細にイメージングするとともに、データのインバージョン解析法を改良する。
- ・有明海の海面温度分布や水質分布に関して共同研究。  
解析に適した衛星画像データを検索し、データ処理によって抽出できる水質、およびその時間的変化を明らかにする。これと海域での実測データとの整合性を検討する。

### ◎生物モニタリンググループと水循環グループとの有機的連携

連続的に反射スペクトルを取得できる新規の分光計で、生育状態が異なる種々のノリ試料の測定を進める。これから生育状態と反射スペクトルとの関係を明らかにするとともに、生育状態を定量化できる反射スペクトルのデータ解析法を開発する。また、従来は試料としては葉状体を用いてきたが、平成18年度の生物モニタリンググループの研究から重金属に対する応答は葉状体よりも糸状体は葉状体よりも敏感であることが示唆されていることから、糸状体の生理状態と反射スペクトルとの関係も明からにする。

### (D) 微量環境汚染物質の定量

- ・次年度はFNPSの応用面の拡大に関する検討と新たに水中の硝酸イオンを迅速に吸着する繊維状吸着剤の開発も行う。
- ・来年度は、亜鉛湿式製錬で発生する浄液滓からのコバルトの回収について検討し、一連の廃棄物からの金属回収と無害化に関する研究を行う予定である。

## 平成18年度研究成果報告

研究課題名：環境汚染物質の生物モニタリング

所属・氏名：自然科学研究科・複合新領域科学専攻・北野健・安部眞一

### 1. 研究目的・目標

#### H15年度～21年度における目的・目標

河川や海に存在する環境汚染物質の中で、特に内分泌系に影響を与える化学物質のことを内分泌攪乱物質と呼ぶ。この内分泌攪乱物質が及ぼす生物への作用機構については未だに明らかにされていないため、有効なモニタリングシステムの開発には至っていないのが現状である。そこで本研究では、内分泌攪乱物質が及ぼす生物への影響メカニズムを明らかにすると同時に、河川や海に存在する内分泌攪乱物質を評価できる生物モニタリングシステムの開発を行う。さらに、環境汚染物質以外の環境要因(水温など)が及ぼす生物への影響及び作用機構についても解析し、生物が生育する環境を総合的に評価できる生物モニタリングシステムの開発をめざす。

#### H18年度の目的・目標

本年度は、環境要因の中で、特に水温が及ぼす生物への影響メカニズムについて解析する。我々は、有明海の沿岸域(水温は約10-28℃)に生息する海産魚であるヒラメ(*Paralichthys olivaceus*)の遺伝的雌(XX)が、性分化時期に18℃で飼育すると100%雌になるが、27℃で飼育することで100%雄へと性転換することを明らかにしている(Kitano et al., 1999)。さらに、高水温飼育による性転換に伴い、アロマターゼ(エストロゲン合成酵素)遺伝子の発現が、特異的に抑制されることが分かっている(Kitano et al., 2000)。そこで、このアロマターゼ遺伝子の発現制御機構の解析を主に行う。

精巣におけるアポトーシスの機構について両生類をモデルとして、リガンドがどのようにして受容体を活性化するか、細胞内でどのようにシグナルが伝わるか、死の実行過程はどのようなものか、について調べる。また、環境毒性物質の精子形成に対する影響を両生類精巣培養系を用いて調べる。

## 2. 平成18年度の研究成果

### (1) 高水温飼育により、遺伝的雌(XX)が雄へと性転換する分子機構

ヒラメアロマターゼ遺伝子の発現を調節する因子の候補を得るため、アロマターゼ遺伝子の5'上流域の塩基配列を調べたところ、Foxl2 binding site と cAMP response element (CRE)を確認した。このことから、転写因子 Foxl2 及び CRE を介するシグナル伝達経路を持つ生殖腺刺激ホルモンが、アロマターゼの発現に性差を導きだす因子の候補として挙げられた。

そこで、ヒラメ Foxl2 cDNA の全翻訳領域を含む塩基配列を決定し、その mRNA の発現パターンを RT-PCR 及び *in situ* hybridization により解析した結果、その発現パターンはアロマターゼ mRNA とよく一致していた。また、ゲルシフトアッセイ及びレポーターアッセイにより、Foxl2 は、アロマターゼプロモーター領域内の Foxl2 binding site に直接結合し、アロマターゼの転写活性を上昇させることが明らかとなった。

次に、生殖腺刺激ホルモン (FSH, LH) 及びその受容体 (FSH 受容体、LH 受容体) mRNA の発現を RT-PCR で調べた結果、FSH、LH、LH 受容体 mRNA の発現は雌雄で検出されたが、FSH 受容体 mRNA の発現は、雄化温度 (27°C) で飼育した個体でのみ抑制されていた。また、無血清培地を用いたヒラメ生殖腺培養系を初めて開発し、この系にリコンビナント FSH (rFSH) または rLH を投与して 18°C または 27°C で培養した結果、rFSH を投与した試験区でのみアロマターゼ mRNA の発現が維持されたことから、性分化時期におけるアロマターゼ遺伝子の発現制御に、FSH シグナリングが関与している事が示唆された。

さらに、温度が生殖腺に直接、影響を与えているのかどうかを解明するため、18°C または 27°C でヒラメ XX 個体の生殖腺を培養した結果、すべての個体でアロマターゼ、FSH 受容体 mRNA の発現が検出され、雄化のマーカーである MIS mRNA の発現が検出されなかったことから、雄化していないと考えられた。これらのことから、温度は生殖腺に直接、影響を与えているわけではなく、生殖腺以外の因子を介して生殖腺内に伝えられているのではないかと考えられた。

### (2) イモリ精巣におけるプロラクチンによるアポトーシス

アポトーシスは、生体にとって不要な細胞を取り除き、組織の恒常性を保つための力として、また有害な細胞を取り除くための自己防衛機構として働くことが広く認められている。正常な精子形成過程においても、生殖細胞死は産生

される精子の数を決定するのに大事な役割を果たす。また環境因子によって細胞死が起こることもある。イモリにおいても、温度が下がる秋になると精母細胞が形成されなくなることが知られていた。我々は、環境因子による精子形成への影響を調べるために、低温によるイモリ精原細胞の細胞死の原因を調べた結果、その細胞死が血中プロラクチン(PRL)濃度の上昇によることを証明した(Yazawa et al., 1999)。イモリ腹腔に PRL を注射すると減数分裂開始直前の精原細胞に細胞死が起こり、この細胞死はアポトーシスであることを証明した(Yazawa et al., 2000)。また器官培養系でも同様にアポトーシスが起こることから、PRL は精巣に直接作用することも示された。

### イモリプロラクチン受容体

PRL 受容体(PRLR)は細胞内ドメインに複数のチロシン残基を有するサイトカイン受容体で、JAK-STAT 経路などのチロシンリン酸化酵素カスケードにより PRL のシグナルを伝達する。一般的に多くの生物種において PRLR の long form (PRLR-L)が存在するが、哺乳類では選択的スプライシングにより細胞内ドメインの長さや配列が異なる short form (PRLR-S)も存在するという報告がある。我々はイモリ PRLR-L cDNA に加えて PRLR-S の細胞内部分 cDNA を単離した(Eto et al., in preparation)。それは、細胞内ドメインにチロシン残基を持たないユニークなタイプであった。また生殖細胞では PRLR-L、-S mRNA の両方が、セルトリ細胞では PRLR-S mRNA のみが発現していた。そこで、PRLR のタンパク質レベルでの解析を行うために、PRLR の細胞外ドメイン全体を抗原とした抗体を作製し、以下のことを明らかにした。1) 生殖細胞、セルトリ細胞ごとの PRLR アイソフォームの発現を調べた結果、生殖細胞には PRLR-L、-S 共に発現するが、セルトリ細胞には PRLR-S のみが発現していた。2) 器官培養に PRL を加えた場合は PRLR-L のリン酸化の上昇を促したが、生殖細胞のみに PRL を添加しても PRLR-L のリン酸化は起こらなかった。3) 生殖細胞とセルトリ細胞を混合して再凝集培養を行い PRL を添加すると生殖細胞にアポトーシスが起こるが、生殖細胞のみの再凝集培養に PRL を加えてもアポトーシスは起こらなかった(図1)。これらのことから、PRL のシグナルは PRLR-S を介してセルトリ細胞を活性化し、生殖細胞に発現している PRLR-L のリン酸化を引き起こすこと、また、PRL のアポトーシスシグナルはセルトリ細胞を介して生殖細胞へと伝えられることが示唆された(Eto et al., in preparation)。

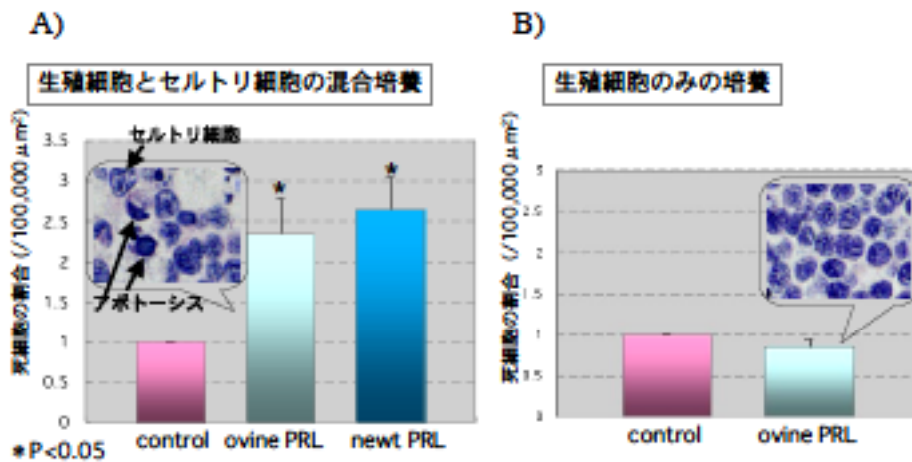


図1 再凝集培養における生殖細胞の細胞死へのPRLの影響  
 生殖細胞とセルトリ細胞もしくは生殖細胞のみの再凝集培養を行い、PRLによる生殖細胞への細胞死誘導を観察した。(A)生殖細胞とセルトリ細胞を再凝集しPRLを添加した結果、ヒツジ、イモリのどちらのPRLを添加した場合でも死細胞の増加が見られた。(B)生殖細胞のみを再凝集しPRLを添加した結果、死細胞の数に差は見られなかった。以上のことからPRLは、生殖細胞のみに対して直接細胞死を誘導できないことが分かった。

### プロラクチンによるアポトーシスにおける Hsp90 の役割

我々は、PRL 刺激により活性化される因子を探るため、イモリ精巣（精原細胞ステージと初期精母細胞ステージを含む）の器官培養に PRL を添加した後チロシンリン酸化されるタンパク質を調べた結果、数時間以内に 90kDa のタンパク質 (p90) がリン酸化されることが分かった。この p90 を精製して部分的なアミノ酸配列を調べた結果、Hsp90b であることが判明した。cDNA を単離し、組み換えタンパク質の抗体を作成して発現を調べると、精原細胞に強く発現していた (図 2) (Saribek et al., 2006)。免疫沈降実験の結果、PRLR-L と Hsp90a と b は複合体を形成していた (図 3)。Hsp90 の阻害剤である geldanamycin を生殖細胞とセルトリ細胞の再凝集培養に投与すると、コントロールと比べて有意に多くのアポトーシスを生殖細胞に誘起した (図 4) (Saribek et al., 2006)。これらの結果、PRL はセルトリ細胞の PRLR-S に結合して活性化した後、多分細胞内に取り込まれて切断や修飾を受け、それが精原細胞の PRLR-L と結合し、Hsp90 をリン酸化に導くものと考えられる。Hsp90 は細胞によっていろいろなタンパク質と相互作用することが知られているので、今後はそれらのタンパク質を探索し、特に PRL を与えたときと FSH を与えたときで Hsp90 との結合やリン酸化等が変化する分子の同定が次の課題である。

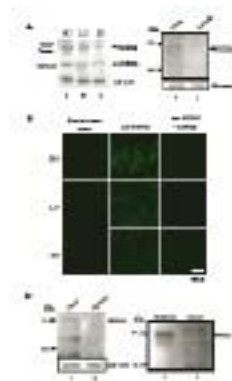


図2 HSP90とPRLRのイモリ精子における発現

(A) 精子形成ステージ別と細胞タイプ別発現をHSP90抗体によって検出した。  
 (B) HSP90抗体による免疫染色。  
 (C) PRLRの細胞タイプ別発現

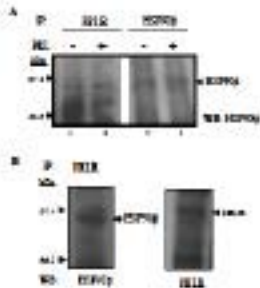


図3 HSP90とPRLRの相互作用

(A)  $\mu$ PRLで精子培養後、PRLR抗体とHSP90抗体によって共免疫沈殿を行い、HSP90抗体によってウエスタンブロットを行った。  
 (B) 生殖細胞分画をPRLR抗体によって共免疫沈殿を行い、HSP90抗体によってウエスタンブロットを行った。

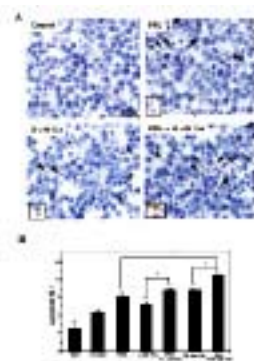


図4 プロラクチンによるアポトーシスに対するgenisteinの影響

(A) 生殖細胞と体細胞の再混雑体にPRL, GA, PRL+GAを加え、TUNEL assayを行った。  
 (B) アポトーシスの割合を定量的に表した。

### 3. 成果の達成度

今年度は、水温が及ぼすヒラメ性分化への影響メカニズムの一部を明らかにしただけでなく、無血清培地を用いたヒラメ生殖腺培養系の開発にも成功した。また、プロラクチンによる精原細胞アポトーシスにおけるセルトリ細胞の役割とプロラクチン受容体と結合するHsp90を同定しその役割を調べたため、目標は十分達成できたと考えている。

### 4. 今年度の問題など

特になし。

### 5. 来年度の目的・目標

来年度は、水温が及ぼす性分化への影響メカニズムをより詳細に調べるだけでなく、水温影響のモニタリングシステムの確立をめざす。また、Hsp90と結合するタンパク質やプロラクチンによって発現が変化するタンパク質を同定し、その役割を解明することを目標とする。

## 6. 平成18年度の研究費取得状況

- (1) 基盤研究(B), 2006-2008年, 550万円(平成18年度分), 精子分化における新規パラクリン因子ニューレギュリンの機能
- (2) 特定領域研究(公募研究), 2005-2007年, 410万円(平成18年度分), 温度依存性性決定の分子メカニズム
- (3) 若手研究B, 2005-2007年, 140万円(平成18年度分), メダカにおける性転換変異体の解析による雌化機構
- (4) 受託研究(アークリソース(株)), 2005-2007年, 100万円(平成18年度分), 魚類始原生殖細胞の増殖および分化誘導に関する研究
- (5) 萌芽研究, 2005-2006年度 130万円(平成18年度分) 体細胞に対する減数分裂の誘導

## 7. 平成18年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表

#### ① 国内誌 (和文)

- (1) 北野健. (2006) ヒラメにおける生殖腺の性分化機構. **水研センター研報**, 4, 27-29.

#### ② 国際誌 (欧文)

- (1) Yuji Jin, Ichiro Uchida, Ko Eto, Takeshi Kitano and Shin-ichi Abe (2007)  
Size-selective junctional barrier and Ca<sup>2+</sup>-independent cell adhesion in the testis of *Cynops pyrrhogaster*: expression and function of occludin.  
**Mol. Reprod. Dev.**, in press.
- (2) Kitano, T., Yoshinaga, N., Shiraishi, E., Koyanagi, T. and Abe, S.-I. (2007)  
Tamoxifen induces masculinization of genetic females and regulates P450 aromatase and Müllerian inhibiting substance mRNA expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Mol. Reprod. Dev.**, in press.
- (3) Shimada, H., Imaishi, K., Hirashima, T., Kitano, T. Ishikura, S., Hara, A. and Imamura, Y. (2007) Stereoselective reduction of 4-benzoylpyridine in the heart of vertebrate. **Life Sci.**, 80, 554-558.
- (4) Ko Eto, Kazufumi Eda, Shintaro Kanemoto, Shin-ichi Abe (2006)  
The immunoglobulin-like domain is involved in interaction of Neuregulin1 with ErbB **Biochem. Biophys. Res. Comm.**, 350, 263-271.
- (5) Buget Saribek, Yuji Jin, Mikiko Saigo, Ko Eto, Shin-ichi Abe (2006)  
HSP90b is involved in signaling prolactin-induced apoptosis in newt testis.  
**Biochem. Biophys. Res. Comm.**, 349, 1190-1197.
- (6) Kawakami, Y., Shin, D. H., Kitano, T., Adachi, S., Yamauchi, K. and Ohta, H. (2006)  
Transactivation activity of thyroid hormone receptors in fish (*Conger myriaster*) in response to thyroid hormones. **Comp. Biochem. Physiol. B**, 144, 503-509.



(2)原著論文以外による発表

① 著書

- (1)安部眞一 新編 精子学 (毛利秀雄・星元紀 監修)。  
2006, pp.55-73。東京大学出版会。
- (2)安部眞一 「脊椎動物の精子分化-イモリ精巢をモデル系として-」  
21世紀の動物科学、第5巻「性と生殖」。印刷中。

② 口頭発表

- (1)張継東、大隈聖子、江頭恒、安部眞一  
Neuregulin はマウス精子形成過程において精原細胞の増殖と減数分裂の開始に特異的な遺伝子の発現を促進する  
日本発生生物学会第39回大会 (広島)、2006年6月。
- (2)白石絵吏、安部眞一、北野健  
メダカ性分化過程におけるミュラー管抑制物質受容体の発現・機能解析  
日本発生生物学会第39回大会 (広島)、2006年6月。
- (3)蛭原智美、白石絵吏、平井俊朗、北野健  
メダカにおける生殖腺刺激ホルモン及びその受容体の発現・機能解析  
日本発生生物学会第39回大会 (広島)、2006年6月。
- (4)川口亜紀子、白石絵吏、矢沢隆志、岩井俊治、山下正兼、青木裕美子、田中実、北野健  
メダカ性分化におけるアンドロゲンの役割  
日本発生生物学会第39回大会 (広島)、2006年6月。
- (5)白水剛、白石絵吏、吉永憲史、金森章、久保優子、堀寛、北野健  
魚類のミュラー管抑制物質の発現制御における Ad4BP/SF-1 の関与  
日本発生生物学会第39回大会 (広島)、2006年6月。
- (6)河崎敏広、居村史人、中田明良、久保田弘、酒巻和弘、安部眞一、高宗和史、  
雄性生殖細胞の純化の試み  
日本発生生物学会第39回大会 (広島)、2006年6月。
- (7)大神浩幹、日吉真照、久保英夫、安部眞一、高宗和史  
アフリカツメガエルの生殖細胞と初期胚で特異的に発現する Xtr タンパク質の機能阻害による減数分裂抑制  
日本発生生物学会第39回大会 (広島)、2006年6月。
- (8)内田一郎、Ozlem Kutlu、江頭恒、樽井寛、阿形清和、安部眞一  
イモリ精原細胞の減数分裂開始におけるイモリ stem cell factor と neuregulin の作用  
日本発生生物学会第39回大会 (広島)、2006年6月。

- (9) Buget SARIBEK, Ko ETO, Mikiko SAIGO, Shin-ichi ABE  
Role of the Hsp90b in Prolactin-Induced Germ Cell Apoptosis during Spermatogenesis of Japanese Red-Bellied Newt (*Cynops pyrrhogaster*).  
20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan, 2006, June 18-23.
- (10) Jidong Zhang, Ko Eto, Shin-ichi Abe  
Neuregulins promote spermatogonial proliferation and expression of meiosis-specific gene Spo11 during mouse spermatogenesis  
20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan, 2006, June 18-23.
- (11) Ko Eto, Jidong Zhang, Seiko Okuma, Shin-ichi Abe  
Neuregulins promote spermatogonial proliferation and expression of meiosis-specific gene Spo11 during mouse spermatogenesis  
23rd CONFERENCE OF EUROPEAN COMPARATIVE ENDOCRINOLOGISTS, Manchester, UK, 2006, Aug. 28- Sep. 2.
- (12) 内田一郎、李ユブン、江頭恒、安部眞一  
イモリセルトリ細胞の培養  
第77回日本動物学会大会 (松江)、2006年9月。
- (13) Shin-ichi Abe and Ko Eto  
Binary Switch Mechanism toward Meiosis or Apoptosis in Late Spermatogonia in the Testes in Japanese Newt, *Cynops pyrrhogaster*. 2007, Mar. 26-28.
- (14) Ko Eto, Buget Saribek, Yuji Jin, Mikiko Saigo and Shin-ichi Abe  
HSP90b is Involved in Signaling Prolactin-Induced Apoptosis in Newt Testis. 2007, Mar. 26-28.
- (15) Ichiro Uchida, Ozlem Kutlu, Ko Eto, Hiroshi Tarui, Kiyokazu Agata, Shin-ichi Abe  
The function of Stem Cell Factor and Neuregulin in the Proliferation and Differentiation of Newt Spermatogonia by Using Culture System. 2007, Mar. 26-28.
- (16) Mikiko Saigo, Hirotaka Nishi, Ko Eto and Shin-ichi Abe  
The Expression of Prolactin Receptor Isoforms and the Role of Sertoli Cells in the Apoptosis of Spermatogonia in the Testis of Japanese Newt, *Cynops pyrrhogaster*. 2007, Mar. 26-28.
- (17) Issei Toyooka, Toshihiro Kawasaki, Kazufumi Eda, Motoshi Hayano, Ai Utoguchi, Ko Eto and Shin-ichi Abe  
Protective Role of a Conserved RNA Binding Protein in Spermatogonial Apoptosis Induced by Prolactin during Newt Spermatogenesis. 2007, Mar. 26-28.

拠点形成研究B「水環境汚染物質の動態評価研究拠点の構築」  
平成18年度研究成果報告（単年度研究成果）

研究課題名：養殖ノリ色落ちによる環境モニタリング

所属・氏名：沿岸域環境科学教育研究センター・滝尾 進

1. 研究目的・目標

H15年度～21年度における目的・目標

植物は外部環境の変化に対しさまざまな応答を示す。なかでも、エネルギー生産の場である葉緑体では反応中心複合体やアンテナ色素複合体は光条件だけではなく栄養欠乏などの各種ストレスにも応答しダイナミックな変動を示す。しかし、緑色植物ではそれらを構成する主要な色素がクロロフィルであるため、これらの構成成分の構造変化を植物の色調変化としては検出しにくい。

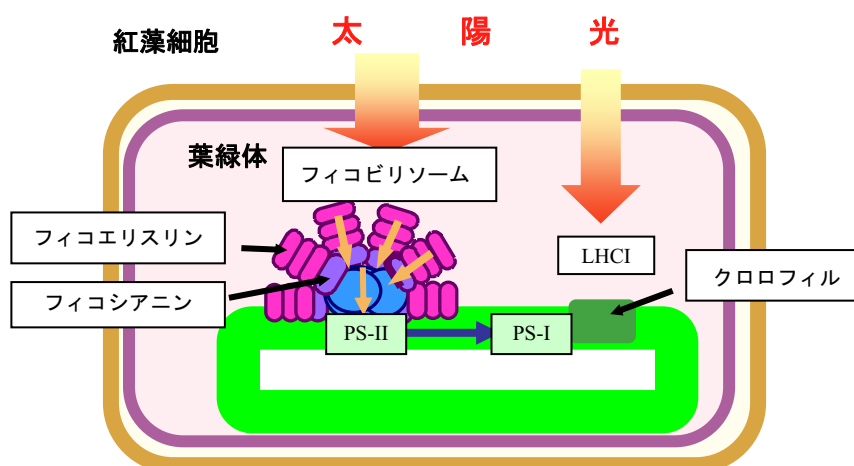


図1 紅藻のアンテナ装置

一方、紅藻やラン藻では、アンテナ色素としてクロロフィルの他に多量の紅色フィコビルン類を含むため〔図1〕、環境変化に対し多様な「色調変化」を示す。

ノリ養殖に利用されている紅藻スサビノリは、我国の海水面養殖産業における重要な資源植物のひとつである。養殖ノリの色調は商品価値を決定する最も重要な形質であり、赤潮などによるいわゆる「ノリの色落ち」は養殖産業において重要な課題の一つであるが、養殖ノリの色調形成の分子機構はまったく研究されていなかった。本研究の目的は、沿岸域水環境モニタリングのための形質転換スサビノリを作出する第一歩として、スサビノリの色調形成に関与する遺伝子を分離し、それらの発現調節機構を明らかにすることである。

## H18年度の目的・目標

昨年度末に窒素源を硝酸塩からアンモニウム塩に切り替えると Ycf18 の発現が誘導されることを見出した。本年度は、Ycf18 の転写量や転写様式およびタンパク質蓄積量におよぼすアンモニウム窒素の影響について調べる。また、平成17年度には養殖ノリのリモートセンシングについての予備実験を開始し、栄養分や重金属欠乏によるスペクトル変化について調べた。重金属欠乏におけるフィコビリ色素組成の変化については検討しているが、重金属添加での退色過程は検討されていなかった。本年度は重金属による退色過程を明らかにするために、銅添加による色素組成や葉緑体構造の変化を調べる。

## 2. 研究成果

### (1) 前年度までの主な成果

#### スサビノリ ycf18 遺伝子の発現様式

ラン藻では窒素欠乏時にも退色しない変異体が分離され、その原因遺伝子として Nb1A が同定されている。Nb1A は通常の栄養状態ではその発現は抑制されているが、窒素欠乏などのさまざまな環境ストレスにより誘導され、退色の誘導に必須であることが明らかになっている。

Nb1A と同源性のある遺伝子 Ycf18 が紅藻類の葉緑体ゲノムに存在するが、機能解析は行われていなかった。そこで、スサビノリより Ycf18 遺伝子を分離し、その発現パターンを調べ、以下のことを明らかにしてきた。

- ①スサビノリ Ycf18 遺伝子は通常条件下でわずかながら発現し、窒素欠乏により発現が低下した。
- ②ラン藻 Nb1A 遺伝子は近接する遺伝子とは共転写することはなく、単独で発現調節されていたが、スサビノリ Ycf18 遺伝子は下流のフィコエリスリン遺伝子と共転写していた。
- ③Ycf18 は窒素やリン欠乏には応答しないが、鉄欠乏により発現が増大した。

しかし、鉄欠乏で見られる発現レベルは微弱であり、引続き他の環境要因についても検討を行なってきた。その後、窒素源を従来の硝酸塩からアンモニウム塩に切り替えることにより ycf18 の発現が著しく増大することが明らかになった。

## スサビノリのリモートセンシング

海洋植物を対象としたリモートセンシングとしては、赤潮プランクトンの消長や藻場の探査などが知られている。有明海ではノリ養殖が盛んであり養殖時期にはノリ網は沿岸域海面の多くを占有することから、リモートセンシングの対象として利用できる可能性がある。従来リモートセンシングの対象となっていた植物は緑色植物であり、養殖ノリのような紅藻類についての研究例はない。スサビノリのリモートセンシング技術の開発の第一歩として、平成17年度には各種栄養欠乏によるノリの反射スペクトルの変化について調べた。重金属欠乏では長期間培養により退色や色調変化が見られるが5日間では顕著な色調変化は観察されなが、反射スペクトルでは顕著な変化が検出された。反射スペクトルはスサビノリのストレス応答の検出に利用できる可能性が示唆された。さらに、重金属欠乏だけではなく重金属汚染によるノリのストレス応答についても利用できる可能性がうまれた。

### (2) 当該年度に得られた成果

#### 1. Ycf18 遺伝子のアンモニアによる発現誘導

- ①色素組成：硝酸塩 2.8mM を含む培地で継代培養した葉状体を窒素源が 5.4mM 塩化アンモニウムに切り替えた培地に移し培養した。フィコエリスリンおよびフィコシアニン量は顕著な変化を示さなかった。
- ②Ycf18 発現様式：通常の硝酸塩培地ではYcf18 は微量ながら発現し、下流に隣接するフィコエリスリン遺伝子 (CpeAB) と共転写していた。窒素源をアンモニウム塩に移すと Ycf18 の発現量は増大した (図 2)。また、このとき CpeAB との共転写産物量も顕著に増大していた。
- ③YCF18 タンパク質の発現様式：無窒素、10mM 硝酸塩および 5.4mM アンモニウムを含む培地で培養した葉状体より細胞破碎液を調整し、SDS-PAGE 後に平成15年度に作製した抗スサビノリ YCF18 抗体を用いてウエスタンブロットを行なうと、アンモニウム培養の場合のみシグナルが検出された。そのサイズはアミノ酸配列から予想される 7kDa であった。

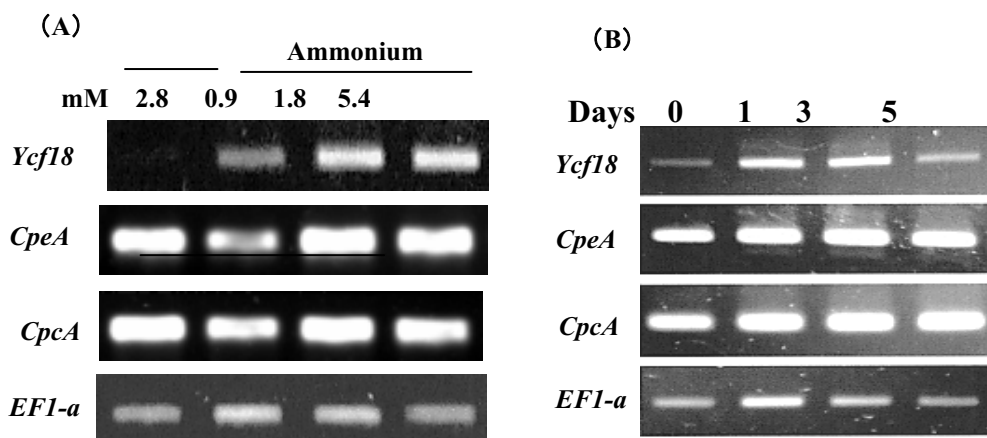


図2 アンモニアによるYcf18の発現誘導  
 (A) 異なるアンモニア濃度での発現量 (B) アンモニア培養における継時変化

## 2. リモートセンシングを用いた養殖ノリのモニタリング技術の開発

### ①銅過剰による葉状体の退色

通常培地で継代培養した葉状体を窒素欠乏および 100  $\mu$ M 硫酸銅を含む培に移し培養し、フィコビリリン量とクロロフィル量を調べた。銅ストレスによっても窒素欠乏と同様にフィコエリスリン、フィコシアニンおよびクロロフィルが同調して減少した (図 3)。窒素欠乏 5 日では葉緑体は著しく縮小したが、通常の培地に戻し一週間以上培養すると、色素量や葉緑体の形態は正常な葉状体と同様になる。100  $\mu$ M 硫酸銅を

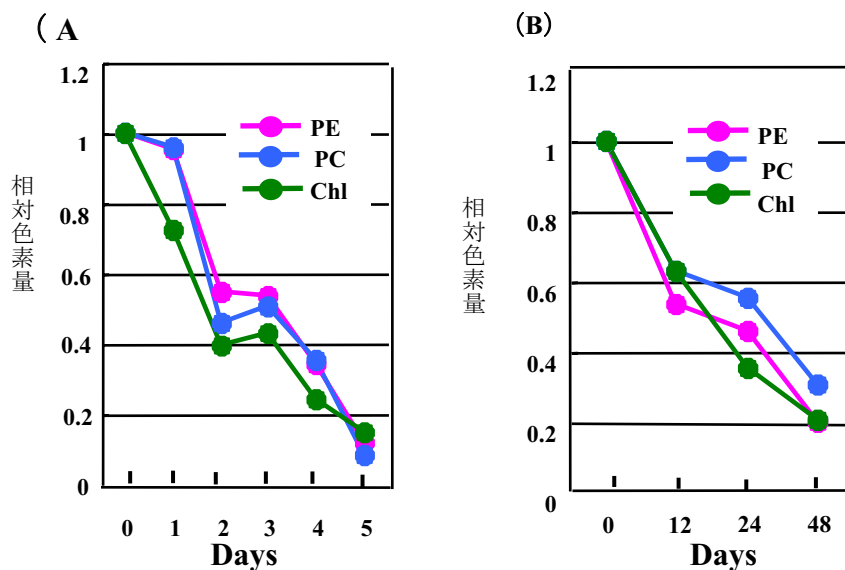


図3 窒素欠乏 (A) および100  $\mu$ M硫酸銅添加 (B) 培養における葉状体の色素量変化

添加して培養すると培養初期には葉緑体が縮小化するが後期には葉緑体が破壊された (図 4)。また、電子顕微鏡観察によると銅添加培養の後期ではチラコイド膜は観察されなかった。窒素欠乏では細胞質に紅藻デンプンが多量に蓄積する。以前の研究では、リン欠乏、亜鉛欠乏、鉄欠乏ではこのような紅藻デンプンの蓄積は検出されなかった。しかし、今回の銅添加では培養初期に紅藻デンプンと類似した顆粒が蓄積していた。以上の結果から、銅添加による退色初期には葉緑体の縮小化や紅藻デンプンの蓄積など窒素欠乏と類似した症状がみられることが明らかになった。

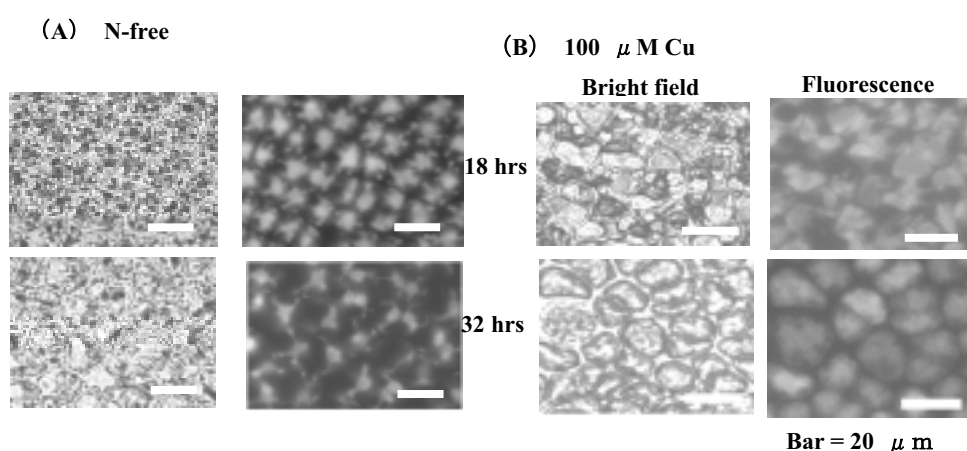


図 4 窒素欠乏 (A) および100  $\mu$  M硫酸銅添加 (B) 培養における葉状体細胞の顕微鏡像

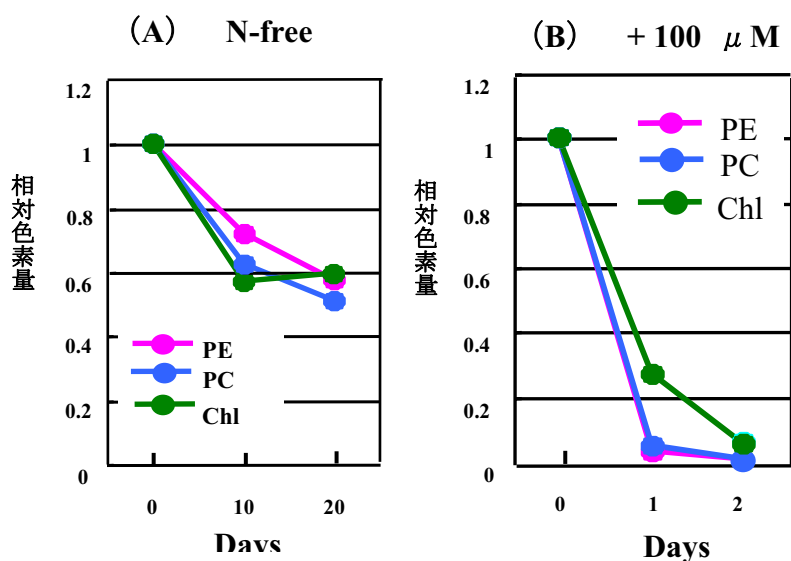


図 5 窒素欠乏 (A) および100  $\mu$  M硫酸銅添加 (B) 培養における糸状体の色素量変化

## ②糸状のストレス応答

スサビノリは半数体世代を葉状体として二倍体世代を糸状体として生活している。本研究は葉状体を用いて研究を進めてきた。糸状体は貝殻に浸入して成育するなど、その生活様式が葉状体とは著しくことなることから、環境ストレス応答能も葉状体とは異なることが予想された。糸状体の栄養ストレスおよび銅ストレス応答能を調べたところ、窒素欠乏に対しては葉状体と比べ著しく応答が低い、銅ストレスについては葉状体よりも感受性が高いことが明らかになった（図5）。

## 3. 成果の達成度

### 1. Ycf18 の発現調節因子

研究当初より不明であった Ycf18 の発現を制御する環境因子の一つがアンモニアであることが明らかになった。

### 2. スサビノリのリモートセンシング

銅添加によりフィコビリソーム分解過程が誘導されることが明らかになった。また、糸状体が葉状体よりも銅感受性が高い可能性が示唆された。これらはいずれもスサビノリのリモートセンシング研究の進展に寄与することが期待される。

## 4. H19 年度の目的・目標

1. Ycf18 の発現様式と機能：Ycf18 はアンモニア同化に関与する可能性が高くなったが、フィコエリスリンと共転写することから YCF18 がフィコビリソームの合成や分解に関与する可能性も残されている。この問題を探る第一歩として YCF18 タンパク質の葉緑体内での局在部位を調べる。
2. スサビノリのリモートセンシング：糸状体による環境モニタリングへ利用の可能性を探るために、糸状体を用いて銅以外の各種重金属添加によるフィコビリソーム分解過程を調べる。

## 5. 研究費取得状況

- ・特定領域研究「葉緑体の増殖制御機構と遺伝子発現調節による植物の高次機能発現」（平成 16～20 年度，分担）



## 6. 研究発表, 特許状況

### (1) 原著論文による発表

- ① 国内誌 (和文) なし
- ② 国際誌 (欧文)

1. Zhang, W., Sakai, S., Lin, X., Takechi, K., Takano, H., Takio, S. (2006) Reverse transcriptase-like sequences related to retrotransposon in a red alga, *Porphyra yezoensis*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70, 1999–2003.
2. Machida, M., Takechi, K., Sato, H., Chung, S. J., Kuroiwa, H., Takio, S., Seki, M., Shinozaki, K., Fujita, T., Hasebe, M., Takano, H. (2006) Genes for the peptidoglycan synthesis pathway are essential for chloroplast division in moss. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:6753–6758.
3. Zhang, W., Lin, X., Suresh, P., Takechi, K., Takano, H., Takio, S. (2007) Characterization of short interspersed elements (SINEs) in a red alga, *Porphyra yezoensis*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 71, 618–622.

### (2) 原著論文以外による発表 (今年度) : なし

### (3) 学会発表

1. 張文波、林曉飛、P. Suresh、武智克彰、高野博嘉、滝尾進. 紅藻スサビノリにおける SINE 様レトロ転移因子の構造と発現, 第9回日本マリンバイオテクノロジー学会, 東京 (2006年5月27–28日)
2. 川上智弘、岩松 望、武智克彰、高野博嘉、滝尾 進. 紅藻スサビノリの栄養欠乏に対するプロテアーゼ遺伝子の発現応答, 第9回日本マリンバイオテクノロジー学会, 東京 (2006年5月27–28日)
3. Peddigari, S., Zhang, W., Takechi, K., Takano, H., Takio, S. Transcriptional activation of retrotransposons in a red alga *Porphyra yezoensis* under stress conditions. 第24回日本植物細胞分子生物学会, つくば (2006年7月29・30日)
4. Kawakami, T., Takechi, K., Hiroyoshi Takano, H., and Takio, S. Expression Pattern of Chloroplast Genes during Nitrogen Deficiency Induced Phycobilisome Degradation in a Red Alga *Porphyra yezoensis*. ICMB 2006 岡崎 (2006年5月10日)
5. Sekmen, H., Ismail Turkan, I., Takio, S. Physiological and biochemical studies of salt induced stress in *Plantago* species. 日本植物学会第40回大会, 熊本 (2006年9月13–16日)

6. 野崎久義, 高野博嘉, 三角修己, 寺沢公宏, 松崎素道, 丸山真一郎, 滝尾進, 田村勝徳, Sung Jin Chung, 中村宗一, 黒岩晴子, 田中寛, 佐藤直樹, 黒岩常祥. 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* で実現した最初の真核生物100%核ゲノム配列. 日本植物学会第40回大会, 熊本 (2006年9月13-16日).
7. 武智克彰, 高橋良子, 保見祥子, 池上亮太, 佐藤博, 滝尾進, 長谷部光泰, 高野博嘉. ヒメツリガネゴケに保存された細菌のペプチドグリカン合成系遺伝子群と葉緑体分裂. 日本植物学会第40回大会, 熊本 (2006年9月13-16日).
8. 林暁飛, 武智克彰, 滝尾進, 高野博嘉. 葉の形態形成に関わる *Angustifolia* 遺伝子のカラマツからの単離と解析. 日本植物学会第40回大会, 熊本 (2006年9月13-16日)
9. Kimura, T., Tanaka, Y., Hanada, K., Takio, S. and Saito, A. Cryptic polyadenylation sites of an RNA virus transgene expressed in tobacco plants. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. June 18-23, Kyoto Japan.
10. 保見祥子, 武智克彰, 高橋良子, 滝尾進, 高野博嘉. ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) で新たに見出されたペプチドグリカン合成系遺伝子 *MraY*, *MurG* の解析. 第48回日本植物生理学会年会, 松山 (2007年3月28-30日)
11. 高橋良子, 武智克彰, 池上亮太, 滝尾進, 長谷部光泰, 高野博嘉. アナベナのペプチドグリカン合成系遺伝子 *AnaMurE*, *AnaPbp1A* によるヒメツリガネゴケ *PpMurE*, *PpPbp* 遺伝子の相補解析. 第48回日本植物生理学会年会, 松山 (2007年3月28-30日)
12. 坂口恵美, 武智克彰, 山田孝幸, 佐藤博, 滝尾進, 高野博嘉. 葉緑体型ダイナミン関連タンパク質をコードする遺伝子群のヒメツリガネゴケからの単離と機能解析. 第48回日本植物生理学会年会, 松山 (2007年3月28-30日)

(4) 特許: なし

## 平成18年度研究成果報告

研究課題名：沿岸域における生物多様性と生物資源の保全に関する研究

所属・氏名：沿岸域環境科学教育研究センター・逸見泰久

### 1. 研究目的・目標

#### (1) H15年度～21年度における目的・目標

現在、有明海・八代海の水産資源は環境の悪化により衰退の一途にある。また、両海域の生物多様性は減少し、両海域に特徴的で学術的にも貴重な種が急速に失われている。さらに、外来種の侵入による遺伝子汚染の問題も顕在化してきた。本研究は、両海域の生態系の把握を通して、生物多様性の維持機構を解明すること、さらに、水産資源の永続的利用システムを開発することを目的とする。

#### (2) H18年度の目的・目標

本年度は、政策創造研究センター・プロジェクト研究を中心に研究を行った。本プロジェクトは、有明海・八代海の沿岸域を中心に、生物多様性の保全・水産資源の持続的利用・環境に調和した防災と開発という3つの課題からなる。

「生物多様性の保全」では、ハクセンシオマネキやナメクジウオなど、両海域を代表する底生動物を対象に、生活史や生息状況に関する研究を行うことを目的としている。

「水産資源の持続的利用」では、タイラギとハマグリを研究材料に、生息環境悪化ならびに乱獲が資源量に与える影響を評価し、生息環境の保全ならびに資源管理技術の開発を推進することを目的として研究を行っている。

「環境に調和した防災と開発」では、八代海北岸の高潮堤防建設と熊本市塩屋海岸の埋立事業を対象として、塩性植物や貝類の移植ならびに生息地創出の技術開発を行うことを目的としている。

### 2. 平成18年度の研究成果

#### ① 生物多様性の保全

ハクセンシオマネキでは、雌の繁殖行動を中心に研究を行った。ハクセンシオマネキは表面交尾と巣穴内交尾の2つの交尾を行うが、雄にとって巣穴内交尾は父性を確実にする点で有利であるのに対し、雌にとっては放浪を伴うため逆に負荷が生じることが明らかになった。

ナメクジウオでは、個体群構造の年変動と成長を中心に研究を行った。本種

では卓越年級群が個体群の維持に重要なはたらきをしていることがわかっている。今年度は、卓越年級群が出現する要因に焦点をあてて研究を行った(図1)。その結果、卓越年級群は1997年、1999年、2003年生まれの個体群であり、少なくとも団塊世代説(卓越年級群の繁殖によって卓越年級群が生じる)の可能性は低いことがわかった。今後は、幼生定着パッチ説(幼生がパッチ状に着底し、卓越年級群が生じる)と幼生生残年変動説(幼生の生残の著しくよい年に卓越年級群が生じる)の検証を行う。

トゲイカリナマコでは、宿主・寄生者(共生者)の種間関係を中心に研究を進めた。トゲイカリナマコを宿主とする寄生者(共生者)には、ヒメムツアシガニ・アリアケヤワラガニなど多くの種が知られるが、分類や生態には不明な点が多い。今年度は、それぞれの種の生活史に焦点をあてて研究を行った。

なお、これらの成果は学術雑誌や学会で発表、あるいは投稿中である。

## ② 水産資源の持続的利用

### a. タイラギ

タイラギは、浅海・干潟の砂泥底に生息する羽箒形の二枚貝である。有明海では重要な漁業対象種で、アサリに次いで漁業生産額が大きい二枚貝であった。しかし、近年、有明海では本種の大量死が続く、長崎県では1993年より、佐賀・福岡・熊本県では1999年より休漁が続いている。大量死の原因については、酸欠、有害物質の流入、底質の泥化、捕食者の増加などいろいろな説が出されているが、現在のところ、特定できていない。有明海におけるタイラギ大量死の原因を明らかにするため、2000年に開始した資源保全に関する研究を継続して行った。

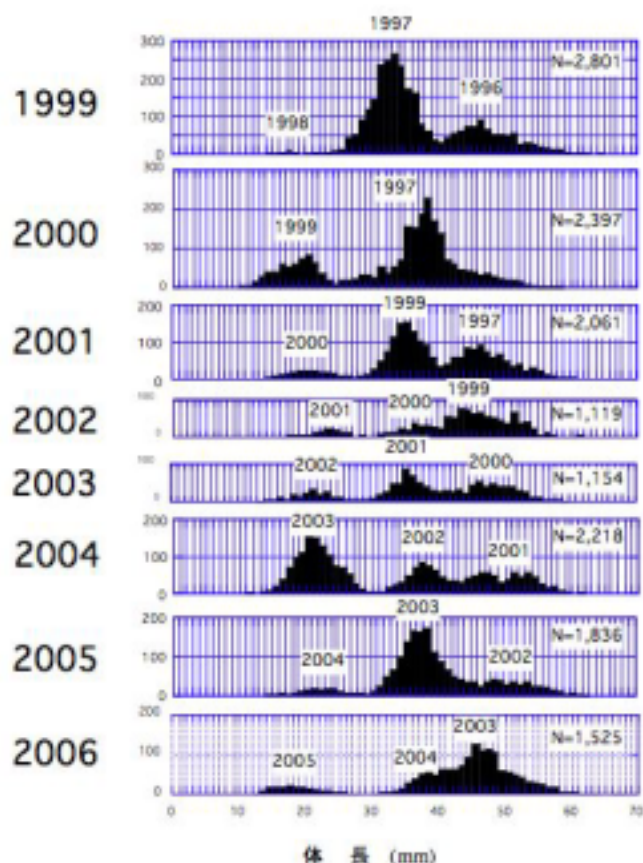


図1 ナメクジウオの体長頻度分布  
(各年とも5～7月の採集個体を集計)

調査の結果、浅海ではタイラギの定着は多く（最大 800 個体/m<sup>2</sup>）、春までは順調に成長したが（4月の時点で殻長 10cm 程度）、夏を中心に死滅し、秋までに全滅した（表）。一方、干潟では、定着は少なかったが（3～50 個体/m<sup>2</sup>）、大量死は観察されなかった。大量死が起きた浅海では、夏になると成長が止まり、生殖腺も小さかった。一方、干潟では夏の成長が最もよく、生殖腺も肥大した。以上の結果より、タイラギの大量死は、生息環境の悪化によることが示唆された。具体的には、貧酸素水塊の発生が最も疑わしく、これには温暖化も影響していると思われるが、秋以降に大量死が起きた場所もあることより、それ以外の要因（例えば、有害物質の堆積など）についての検討も必要である。

#### b. ハマグリ

ハマグリの厳格な資源管理が行われている加布里湾（福岡県）とほとんど資源管理が行われていない白川河口（熊本市）での比較調査を通して、熊本県におけるハマグリの資源管理技術の開発を行った。ハマグリは、縄文時代の貝塚から最も普通に産出する貝類で、最近までは全国の砂質干潟において同じ二枚貝のシオフキと共に優占種であった。しかし、1980年頃より多くの地域で漁獲量が激減し、多くの県では絶滅危惧種にさえ指定されている。ハマグリは砂質干潟の食物連鎖の基盤となる種であり、また、生物攪乱により底質改善を行う種であるので、資源量の回復は、単に水産上の意義だけでなく、生物多様性や干潟環境を改善する上でも意義があるであろう。

調査の結果、資源管理がほとんど行われていない白川河口では、殻長3cm以上のハマグリがほとんど見られず、殻長5cm以上に至っては加布里の40分の1程度の密度しかなかった（表1）。しかし、稚貝は少なくはなく、殻長3cm未満のハマグリは加布里では172個体/m<sup>2</sup>、白川河口（海域）では118個体/m<sup>2</sup>であった（約3分の2）。このことは、白川河口でも、稚貝の供給は十分に行われており、漁獲管理さえ行えば十分に資源が回復し、大型のハマグリも増加することを示唆している。

また、ハマグリの稚貝の着底場所として、砂地、特に河川内の砂地の重要性が明らかになった。加布里では多くの稚貝が河川内に着底し、成長と共に海域に移動した（図2）。白川河口でも、夏季の大雨の後に河川内のハマグリが減少し、逆に海域のハマグリが増加したが、これは、河川から海域へのハマグリの受動的な移動であると考えられる。これらの事実は、砂地、特に河川内の砂地の環境の悪化がハマグリ資源の壊滅に直結することを示唆している。ハマグリ激減の原因として、河川内の砂利採取や砂防ダム建設による流下砂量の減少が指摘されているが、本研究の結果もそれを支持している。

表1 加布里と白川河口（海域）におけるハマグリの密度の比較（2006年8月）

殻長	加布里	白川	加布里/白川
3 cm未満	171.6	117.9	1.46 倍
3 - 5 cm	27.2	3.0	9.07 倍
5 cm以上	8.1	0.2	40.50 倍
計	206.9	121.1	1.71 倍

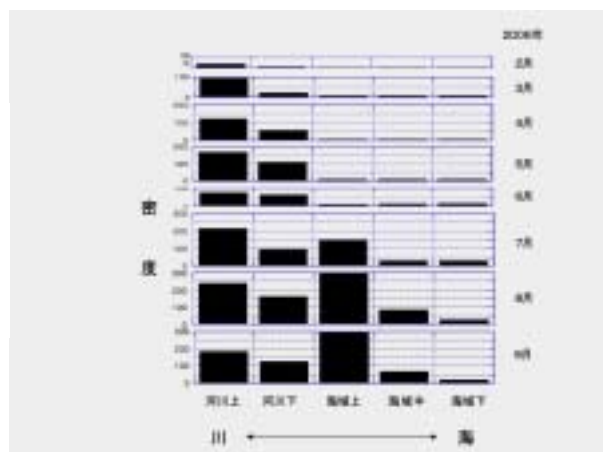


図2 2006年2～9月における2005年級群の密度（1/m<sup>2</sup>）

なお、水産資源の管理には、対象種的生活史や棲息状況の把握だけでなく、漁業者の合意形成や漁獲規制の制定などが必要である。今後は、熊本県・熊本市だけでなく、漁連・漁協に対しても、研究結果の説明や資源保全に関する協議を重ね、ハマグリの資源保全のための有効な政策提言を行えるようにしたい。

### ③ 環境に調和した防災と開発

ミチゲーション技術の確立では、全国的に激減している塩性湿地の環境を保全するために、護岸堤防によって消滅する塩生植物の移植とモニタリングを行った。また、それとは別に、現在計画されている埋立地に新たな塩性湿地を創生するミチゲーション案を作成した。

塩性湿地は、河岸や干潟最上部に成立する環境で、急激な塩分の変化に適応した特有の生物相が成立している。例えば、熊本県では、ヨシ・フクド・ハママツナといった耐塩性の強い塩生植物や、ヘナタリ類・オカミミガイ類・シオマネキなどの底生動物が生育棲息している。ただし、塩性湿地は人間の生活圏に隣接して成立するため、人間生活の影響を強く受け、その多くが消滅あるいは悪化している。そして、その結果、塩性湿地の塩生植物や底生動物の多くが、絶滅、あるいは絶滅の危機に瀕している。

塩生植物の移植とモニタリングは、八代海北岸の桂原で行った。八代海北岸では、1999年の台風18号による高潮災害以降、護岸改修工事や水門の増設が盛んに行われるようになり、塩性湿地や周辺の干潟の消失・悪化が続いている。塩生植物の移植は、桂原の入り江部と海岸部の2カ所で行った（図3）。入り江部では、地盤高を変えてヨシを移植し、その後のヨシの成長と周辺の巻貝の分布を追跡した。その結果、地盤高が自然植生に比べて低い場所ではヨシは成長したものの、密度が低かった。また、夏季に移植すると一時的とはいえ地上部が

枯死した。このことより、塩生植物の移植には、移植時期と地盤高が重要であることがわかった。なお、移植地ではシマヘナタリなどの貝類も多く見られ、塩生植物の移植は、同時にそこを生息場所とする底生動物の保全にとっても重要であることがわかった。

桂原の海岸部では、ナガミノオニシバ・ハマサジ・ハママツナを移植した(図4)。移植後、塩生植物は順調に生育していたが、2006年の台風13号の高潮等により大部分のハマサジ・ハママツナが流失、一部のナガミノオニシバが枯死した。このように、汐入部と異なり、海岸部での塩性湿地の創生には、台風などのイベントに対する備えが不可欠であることが明らかになった。

一方、埋立地におけるミチゲーション案の作成は、熊本市の塩屋海岸で行った。塩屋海岸では、生物相の豊かな塩性湿地が過去の埋め立てにより消滅している。したがって、塩屋海岸では、生物の移植によるミチゲーションではなく、どのような湿地を創れば、どのような塩生植物や底生動物が移入してくるのかを前もって予測した。また、ミチゲーション案は未完成で、今後改良を重ねて行かなくてはならない段階である(図5)。今後も事業者の熊本県やアセスメントを委託されている(株)西日本技術開発と研究・協議を進め、有効なミチゲーション案を完成したい。また、よりよいミチゲーション案を作成するために、塩屋海岸周辺の塩性湿地における生物相調査や、過去に各地で行われた塩性湿地創生の事例調査なども行いたい。



図3 桂原の入り江(汐入)における塩性湿地の創生



図4 桂原の海岸部における塩性湿地の創生

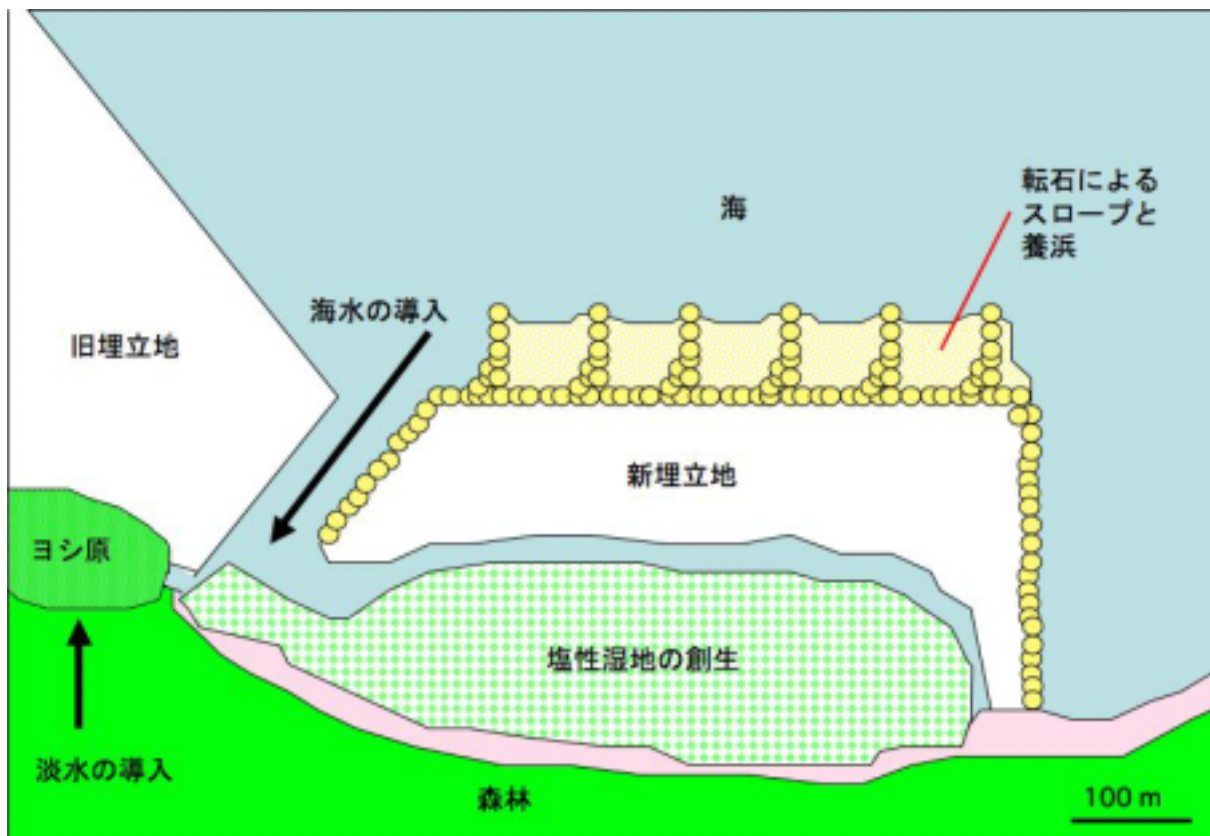


図5 塩屋海岸ミチゲーション案

## 2. 成果の達成度

各プロジェクトは順調に進展しており，研究目標は十分達成できたと考える。

## 3. 今年度の問題など

新規の研究（特に野外調査）が多く，論文執筆に集中できなかった。

## 4. 来年度の目的・目標

政策創造研究センター・プロジェクト研究は，来年度が最終年度であるため，本プロジェクトを継続・進展させる。「生物多様性の保全」では，特に八代海北岸と塩屋海岸周辺で調査を行う。「水産資源の持続的利用」では，ハマグリをモデルに研究を継続し，資源管理に必要な基礎データを収集すると共に，熊本県・熊本市や漁協と頻繁に協議を行い，合意形成に基づく資源管理の道を探る。「環境に調和した防災と開発」では，八代海において移植した塩性湿地と貝類のモニタリングを継続すると共に，熊本市塩屋地区（有明海）の海岸埋め立てに対するミチゲーションの技術開発を進める。



## 5. 平成18年度の研究費取得状況

- (1) 大学等開放推進事業（J r. サイエンス事業）, 2006年, 30万円, 一般公開実習「海のいきものを知る」
- (2) 政策創造研究センター・プロジェクト研究, 2006年, 200万円, 有明海・八代海の生物棲息環境の評価・保全・再生

## 6. 平成18年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表

- ① 国内誌（和文） なし
- ② 国際誌（欧文）

1. Yamaguchi, T. & Henmi, Y. (2006) The feeding apparatus of two fiddler crab species, *Uca vocans* (Linnaeus, 1758) and *U. tetragonon* (Herbst, 1790). *Crustacean Research* 33, 27-55.
2. Yamaguchi, T., Honda, H., Aratake H. & Henmi, Y. (2006) Decorating behavior of the majid crab *Hyastenus diacanthus*. *Crustacean Research* 35, 79-91.

### (2) 原著論文以外による発表

1. 内野明德・逸見泰久・柿本竜治・福田靖・上村彰 (2006). 有明海・八代海の生物棲息環境の評価・保全・再生. 政策創造研究プロジェクト 2005 年度報告書. p.237-259. 政策創造研究センター.
2. 八代海の塩性湿地生物群集の評価・再生・創出, 逸見泰久, 河川環境管理財団河川整備基金助成事業「調査・試験・研究」報告書, 印刷中.

### (3) 学会発表

1. 安井金也・浦田慎・逸見泰久, 飼育下におけるヒガシナメクジウオの成長：受精から1年. 日本動物学会, 松江市, 2006.9.
2. 逸見泰久・梶原信輔・長崎豪. ハマグリ *Meretrix lusoria* 激減の原因は, 環境悪化か, 乱獲か? 日本ベントス学会, 広島市, 2006.9.
3. 佐藤慎一・山下博由・浜口昌巳・逸見泰久・金敬源. ハマグリとシナハマグリは別種か? 韓国での分布と形態・遺伝子の比較から 日本ベントス学会, 広島市, 2006.9.
4. 三島伸治・逸見泰久, 博多湾におけるヨモギホンヤドカリの繁殖生態, 日本甲殻類学会, 函館市, 2006.10.
5. 山口隆男・逸見泰久, シオマネキ類における性比について, 日本甲殻類学会, 函館市, 2006.10.

### (4) 特許

1. 逸見泰久・藤芳義裕. タイラギの海面垂下による養殖 (KTL-078, 申請中).

## 平成18年度研究成果報告

研究課題名：環境汚染物質のバイオ・レメディエーション

所属・氏名：大学院自然科学研究科・古川憲治

### 1. 研究目的・目標

#### <平成15年度～21年度における目的・目標>

閉鎖性度の著しく高い有明・八代海の富栄養化の進行が大きな社会問題となっている。窒素、リンの栄養塩が水域富栄養化の原因物質であるが、その汚染源としては工場排水とか下水処理場等のポイントソースと農地等からのノンポイントソースが挙げられる。ポイントソースには、水域環境基準を達成するために、厳しい排水基準(T-N 10mg/l、T-P 1mg/l)が水質汚濁防止法に基づいてかけられるものと予想されている。

排水からの窒素除去法に関しては、これまで生物学的な硝化、脱窒反応を組み合わせた処理方法が適用されてきたが、その実施には巨大な処理システムが必要となるばかりか、処理コストも従来のBOD、SS除去を目的とした2次処理の約1.5倍にもなることから、効率的、経済的な栄養塩除去方法の開発が望まれている。

1995年にオランダのデルフト工科大学の研究グループから報告された新しい窒素の代謝経路である嫌気性アンモニア酸化(Anaerobic ammonium oxidation: Anammox)は、これまでの窒素除去の概念を大きく変えるもので、多くの研究者の注目を集め、その追試が行われたが、Anammox細菌が生育速度の著しく遅い嫌気性の自栄養性細菌であることからその殆どが失敗に終わっている。

工学部環境システム工学科の古川研究室では、1996年からこのAnammox細菌の集積に関する研究を開始し、ポリエステル製不織布を微生物の付着担体として活用した上向流カラムリアクタを用いて日本で始めて、世界でも3番目にAnammox汚泥の集積培養に成功した。現在Anammoxを活用した排水処理システムの確立に向けて50lの容積の大型リアクタを活用してAnammox汚泥の大量培養に関する研究を実施している。

平成15年度～21年度の研究期間中では、この集積に成功したAnammox汚泥を活用して、これまでに全く報告されていない新規な窒素自法を開発することを目的として研究を行う予定である。

#### <平成18年度における目的・目標>

平成17年度までに得られたAnammox汚泥の集積に関する研究室での研究成果を基にして、平成18年度は次の目的・目標で研究を行う。

- 1) 50 l の容積の大型上向流カラムリアクタによる Anammox 汚泥の迅速・大量調製に関する研究を行う。
- 2) PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床リアクタの運転法を確立するとともに、その処理特性を把握する目的で研究を行う。
- 3) 新規担体による Anammox 汚泥の集積に関する培養試験を行う。
- 4) Anammox に先立つアンモニアの処理方法としてとしての部分亜硝酸化処理リアクタを構築するとともに、それによる部分亜硝酸化処理の運転条件を確立する。
- 5) 高濃度の  $\text{NH}_4\text{-N}$  を含有する排水を処理対象に SNAP 処理能力の検討を行う。

## 2. 研究方法

- 1) 50 l の容積の大型上向流カラムリアクタへの菊花状不織布の充填方法と、排水供給方法の工夫により大型の Anammox リアクタをいかに迅速に立ち上げるかを検討する。
- 2) PVA ゲルビーズを流動担体とする流動床リアクタの最適運転条件の確立と、その処理特性の把握を行う。
- 3) ポリエステル製繊維不織布、PVA ゲルビーズ以外の担体として、ビール製造の際の搾りかすを固形—炭化処理したモルトセラミックス、ポリエステル製スポンジシートを用いた Anammox 汚泥の集積試験を行い、Anammox 汚泥の集積にこれら担体が活用できるかどうかを検討する。
- 4) 部分亜硝酸化処理のリアクタの付着固定化担体として、網目状のアクリル製繊維担体を活用したリアクタを構築し、これによる部分亜硝酸化処理の運転条件を確立する。
- 5) 500mg/l の  $\text{NH}_4\text{-N}$  を含有する排水を処理対象に SNAP 処理を行い、その処理の安定性を連続処理試験で検討する。

## 3. 研究成果

### 1) 前年度までの主な成果

- ① 50 l の容積の大型上向流カラムリアクタをこれまで研究室で蓄積してきた Anammox 汚泥の馴養プロトコルに従って立ち上げ、T-N 容積除去速度  $1.0\text{kg-N/m}^3/\text{d}$  を 3 ヶ月後に、4 ヶ月後には  $1.67\text{kg-N/m}^3/\text{d}$  の最大窒素除去速度を達成した。
- ② スケールアップした 50 l の容積の大型上向流カラムリアクタでも、Anammox 汚泥の菌相は安定して維持されることを認めた。
- ③ 15 l の容積の上向流カラムリアクタを使って Anammox 処理に及ぼす温度の影響を連続処理系で検討し、活性化エネルギーが  $5,000\text{Kcal/mol}$  と低いこと

かを明らかにし、Anammox 反応は温度に関する感受性が比較的低いことを明らかにした。

## 2) 当該年度で得られた成果

### ① 50 l の容積の大型上向流カラムリアクタの迅速立ち上げ

50 l の容積の大型上向流カラムリアクタに充填する不織布を上下に分断して充填する方法ではなく、連続した状態で充填する方法を採用した。それと、負荷の立上げを、流入水の  $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$  が  $200\text{mg/L}$  になるまでは、段階的に流入水の窒素濃度を高める方法で負荷量を  $1.0\text{ kg-N/m}^3/\text{d}$  まで高め、それ以降は流入水量を段階的に高める方法 (HRT を短くする) で負荷量を高める方法を採用した。その結果、80 日で T-N 容積除去速度  $1.0\text{ kg-N/m}^3/\text{d}$  を、140 日後に  $2.4\text{ kg-N/m}^3/\text{d}$  を、250 日後にこれまでの 50 l 容の Anammox カラムリアクタでは最高となる  $3.26\text{ kg-N/m}^3/\text{d}$  の窒素除去速度を達成することができた。

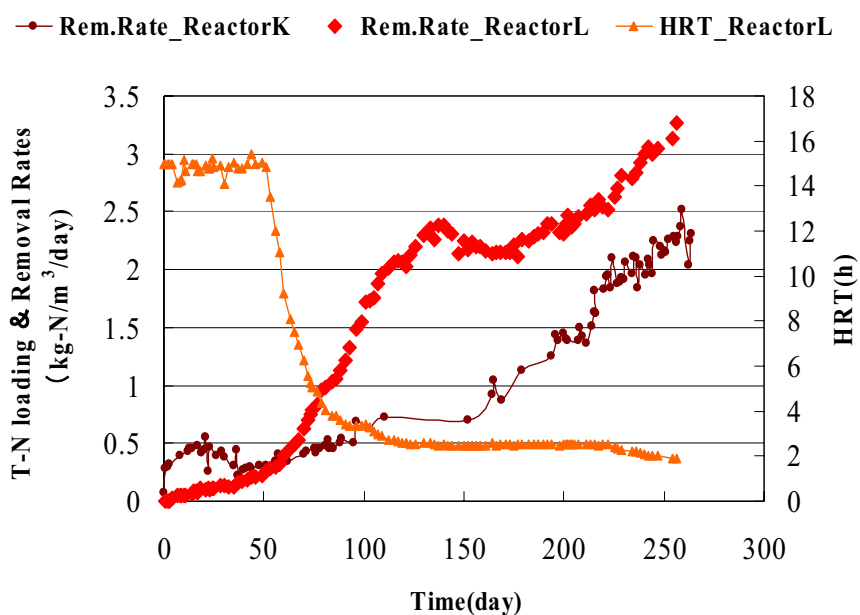


図1 窒素除去速度の経日変化

この立ち上げ試験において、時間経過と共に Anammox 汚泥の菌叢がどのように変化するか、DGGE 法による菌叢解析を行った。その結果、熊本大学で集積培養に成功した Anammox 汚泥の中から検出されている Anammox 菌である KSU-1 株及び KU2 株が、リアクタ内でうまく棲み分けを行っていることがわかった。KSU-1 株は全ての培養期間において 15%以上存在し、この Anammox 汚泥を構成する主要な菌であり、その存在割合は上部<中部<下部となる傾向があり、窒素除去速度が高くなるとこの傾向の高まることが分かった。この結果、KSU-1 株は窒素負荷の低い条件で優占することが明らかとなった。KU2 株の存在割合の傾向は KSU-1

株とは逆で、上部<中部<下部となっていたが、その存在割合が15%を超えることはなかった。この結果、KSU-1株とは逆にKU2株は窒素負荷の高い条件で優占することが明らかとなった。

## ② PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床の構築

上向流 Anammox カラムリアクタでは、リアクタ内の基質の流れが押し出し流れとなるために、流入する基質濃度が高くなると、Anammox 反応に及ぼす基質、特に  $\text{NO}_2\text{-N}$  の阻害が顕著となる。この押し出し流れによる欠点を補う目的で、比重が 1.03 と小さな PVA ゲルビーズを Anammox 汚泥の付着担体とする容量 2.15 l の流動床リアクタを構築した。

実験開始から約 121 日で窒素除去速度  $1.0 \text{ kg-N/m}^3/\text{d}$  を達成し、約 220 日目で  $2 \text{ kg-N/m}^3/\text{day}$  に到達、実験を通して最大  $2.88 \text{ kg-N/m}^3/\text{d}$  を記録でき、PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床の構築に成功した。

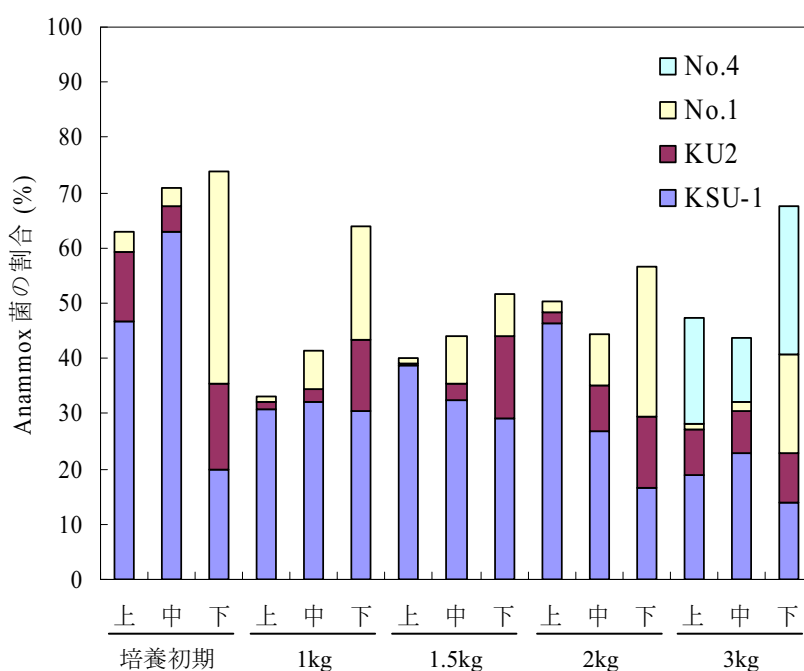


図2 各段階における KSU-1 株及び KU2 株の割合

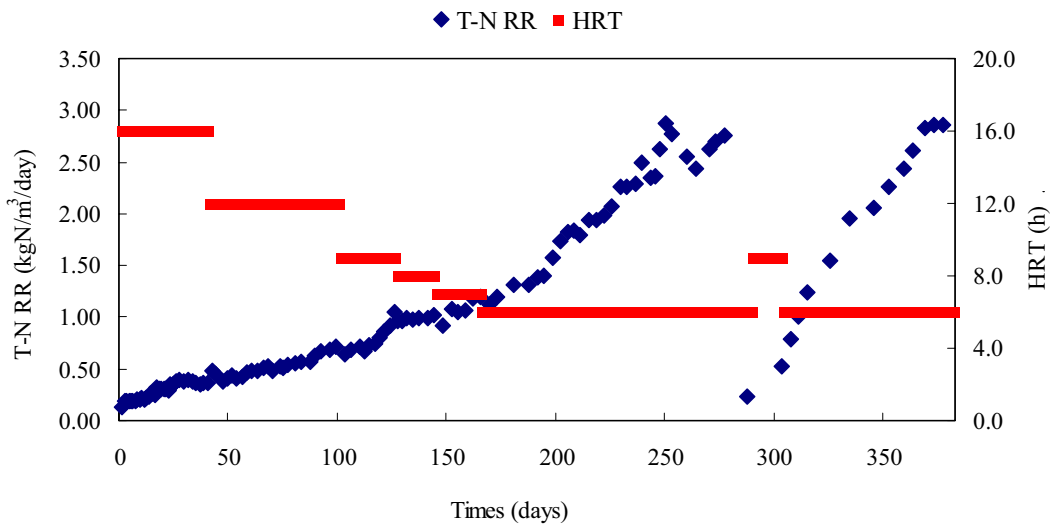


図3 窒素除去速度の経日変化

### ③ 新規担体による Anammox 汚泥の集積

不織布、PVA ゲルビーズ以外の Anammox 汚泥の担体として活用が期待できるビール製造の際の搾りかすを固形—炭化処理したモルトセラミックスと、リング状に整形したアクリル繊維製担体が Anammox 汚泥の集積培養に適用できるかどうか上向流カラムリアクタを用いて連続処理試験で検討した。

容量 1.63 l のリアクタに 0.65 l のモルトセラミックス (粒径: 2–4mm、比重: 1.8、平均孔径: 300 μm) とスパーサーとしての内径 4mm、外径 6mm、長さ 25mm のガラス管 180 本充填した固定床 MC リアクタを連続運転した。約 275 日目間運転し、T-N の濃度を 100 から 850 mg-N/l へと段階的に上げるのに伴い、T-N 除去速度は 0.18~5.36 kg-N/m<sup>3</sup>/d に上昇した。258 日目に、最大 T-N 除去速度 5.36 kg-N/m<sup>3</sup>/d、T-N 除去率 79% を達成できた。

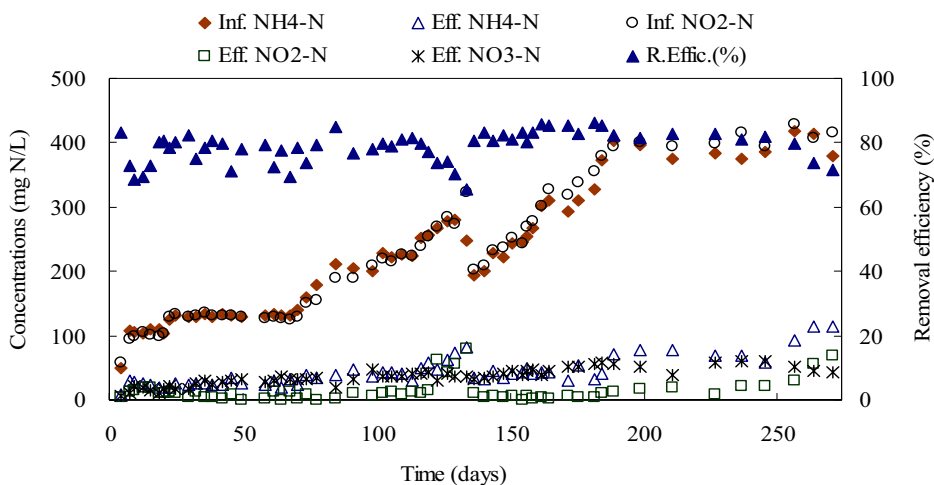


図4 MC(3-5mm)リアクタにおける各態窒素濃度の経日変化

次に、粒径 10-15 mm の MC を担体とする同様の固定床 MC リアクタを運転し、約 275 日目間運転した。T-N の濃度を 100 から 300 mg-N/l へと段階的に上げるのに伴い、T-N 除去速度は 0.14~3.98 kg-N/m<sup>3</sup>/d に上昇した。236 日目に、最大 T-N 除去速度 3.98 kg-N/m<sup>3</sup>/d、T-N 除去率 81% を達成した。運転期間中 20 日間 (150 ~170 日目)、合成排水から実排水に切り替えた時期があったので、それを考慮するとより高い T-N 除去速度を得ることが可能であったと考えられる。

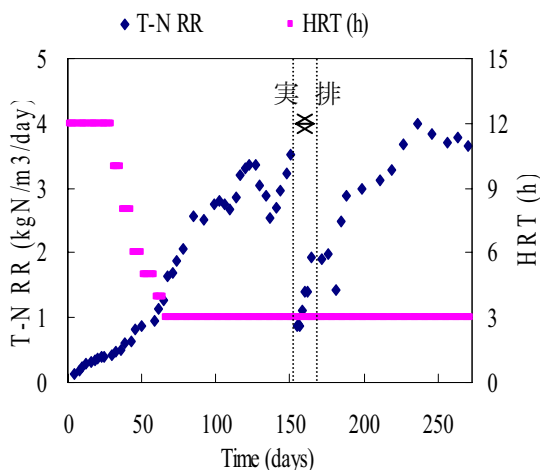


図5 窒素除去速度の経日変化

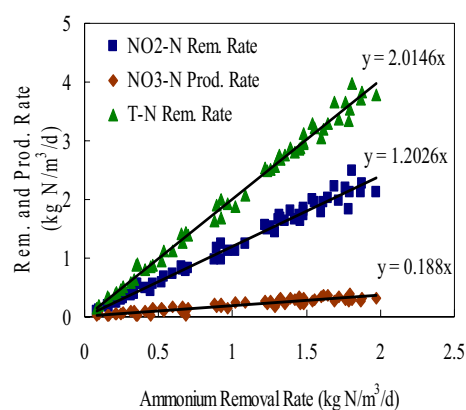


図6 MC リアクタにおける Anammox 反応比

スポンジを活用する Anammox リアクタの容量は 2.9 L、反応部体積 2.6 L、リアクタの内径は 90 mm、リアクタの高さは 410 mm である。Anammox 汚泥の付着固定化担体として、平均孔径 1060 μm、厚さ 10 mm、間隙率 96% のスポンジ担体 (表面積 960 cm<sup>2</sup> の長方形 6 枚からなる) を菊花状にアクリル製のフレームに伸張して使用した。立ち上げからの 2 ヶ月間、担体内に封じ込められた酸素により、培養初期は担体内の嫌気状態が保てず、0.2 kg-N/m<sup>3</sup>/day と T-N 除去速度が低い状態が続いた。担体内の酸素が消費された後、Anammox の活性が回復し、約 111 日目で窒素除去速度 1.0 kg-N/m<sup>3</sup>/d を達成し、約 140 日目で 2 kg-N/m<sup>3</sup>/d に到達、実験を通して最大 2.84 kg-N/m<sup>3</sup>/d を記録できた。

以上のように、Anammox 汚泥の集積培養には Anammox 汚泥が付着する担体の使用が有効で、それらの特性を生かした装置設計と運転をを行うことで、Anammox 活性を 3-5 kg-N/m<sup>3</sup>/d にまで高めることが可能となることが明らかとなった。

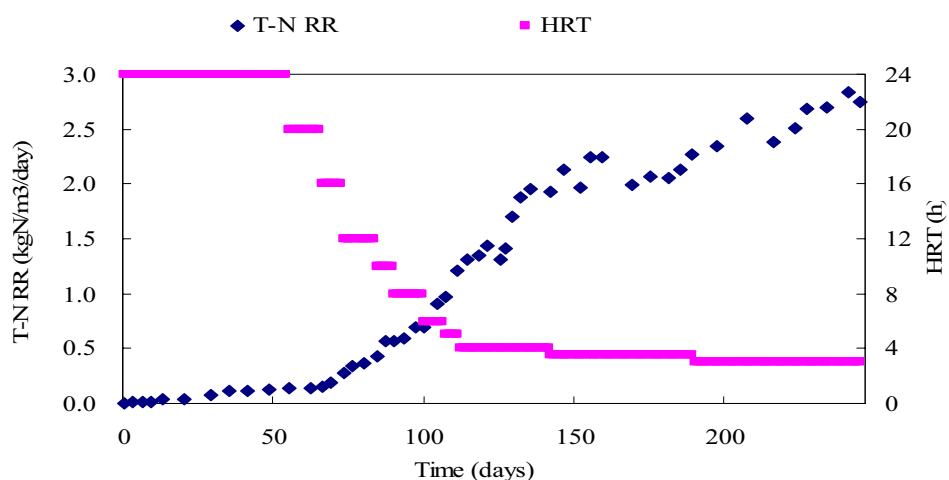


図7 窒素除去速度の経日変化

#### ④ SNAP 法に関する研究

付着固定化法を活用した部分亜硝酸化処理の長期安定化処理を検討している中、一槽で  $\text{NH}_4^+$  が除去できる SNAP 法が発見された。図8に SNAP の概念図を示す。汚泥付着性の高い担体を活用することにより、硝化活性汚泥が付着固定化した環境が形成される。付着固定化された汚泥表面に存在するアンモニア酸化細菌によって溶存酸素が消費されることにより、汚泥内部が嫌気状態となる。これにより、絶対嫌気性である Anammox 菌が生存できる環境が整う。

この SNAP 法の高濃度アンモニア含有排水への適用できるかどうか流入の  $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度を  $500\text{mg/L}$  に高め、HRT は 12 h、T-N 容積負荷量  $1.00\text{kg/m}^3/\text{d}$  の条件下で検討した。



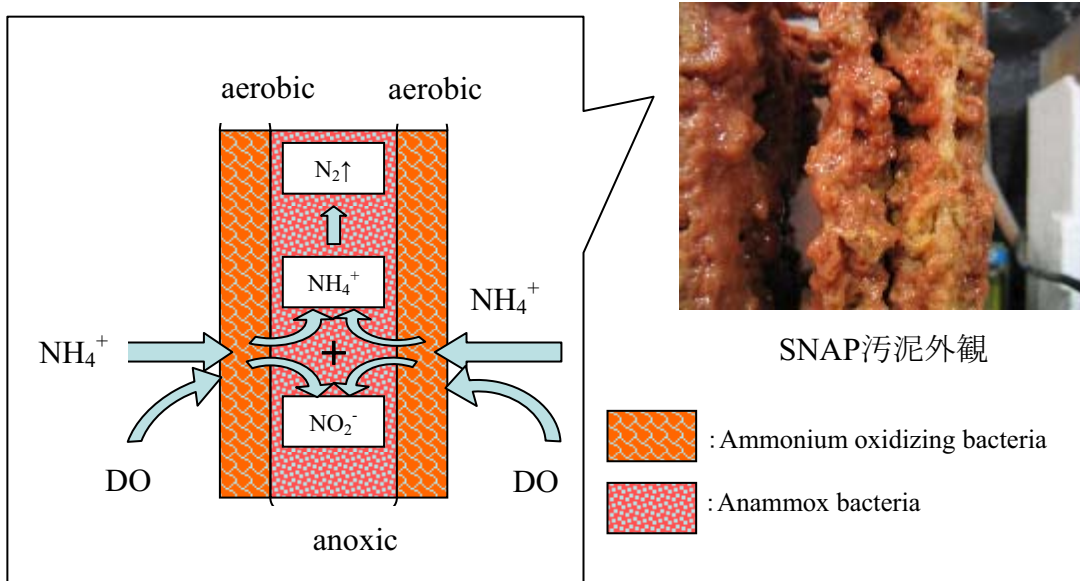


図8 SNAP 汚泥の概念図と外観

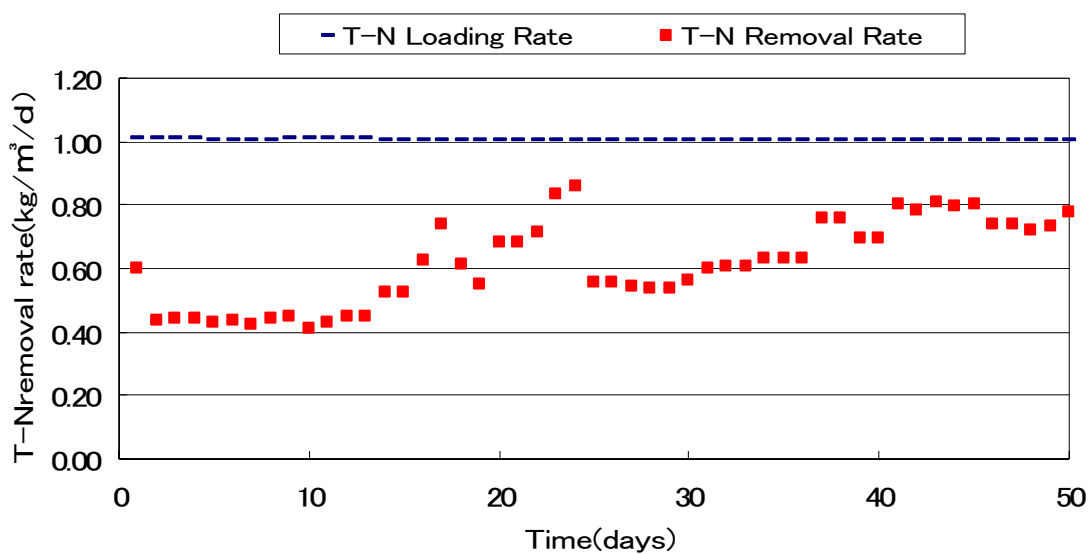


図9 SNAP 処理における窒素除去速度の経日変化

流出の NH<sub>4</sub>-N 濃度は 100~250mg/L であるのに対して、NO<sub>2</sub>-N 濃度が 0~20mg/L と低い。これは Anammox の反応比が NH<sub>4</sub>-N: NO<sub>2</sub>-N≒1:1.3 であるが、前段階の部分亜硝酸化において、流出水を NH<sub>4</sub>-N/ NO<sub>2</sub>-N≒1 の状態で固定していたためである。

25 日目に T-N 除去速度が 83%から 58%に低下した。これはリアクタ内で汚泥が増殖し過ぎて液循環が悪くなり、排水と汚泥付着担体との接触効率が低下し

たためである。35 日目に汚泥を引き抜いたところ、40 日目以降 80%近い T-N 除去率に回復した。50 日間、高  $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度の条件下において、平均 T-N 除去率が 65%と安定して除去することができた。最大 T-N 除去速度は  $0.86\text{kg}/\text{m}^3/\text{d}$ 、最大 T-N 除去率は 85%を達成することができた。

#### 4. 成果の達成度

Anammox の実用化を念頭に、不織布を付着固定化担体とする Anammox リアクタを 50 l までスケールアップし、その早期立上げ試験を繰り返してきた。その結果、不織布を連続した状態で充填し、負荷の立上げを、最初は濃度で、その後流量を高める方法を採用することで、80 日で T-N 容積除去速度  $1.0\text{kg-N}/\text{m}^3/\text{d}$  を、140 日後に  $2.4\text{kg-N}/\text{m}^3/\text{d}$  を、250 日後にこれまでの 50 l 容の Anammox カラムリアクタでは最高となる  $3.26\text{kg-N}/\text{m}^3/\text{d}$  の窒素除去速度を達成することができ、実用化に目処をつけることができた。

Anammox リアクタを早期に立ち上げるには、Anammox 汚泥が付着する担体の使用が有効であることを、ポリエステル製不織布、PVA ゲルビーズ、モルトセラミックス、ポリエステルスポンジシートを Anammox 汚泥の付着固定化担体とした連続試験で明らかにすることができた。

一槽型のアンモニア除去装置として新規に開発した SNAP 法の高濃度アンモニア排水への適用を念頭に流入  $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度を  $500\text{mg}/\text{l}$  に高めた連続処理試験を行い、 $\text{NH}_4\text{-N}$  容積負荷量  $1.0\text{kg-N}/\text{m}^3/\text{d}$  で 70–80%の窒素除去率を得ることができた。

#### 5. 平成 19 年度の目的・目標

- 1) 50 l リアクタを再度、運転し、Anammox 汚泥の調整を図り、様々な実験の種汚泥として活用する。
- 2) 揺動床リアクタによる部分亜硝酸化処理を、バイオガスプラント脱離液、都市下水処理場汚泥脱離液を処理対象に行い、部分亜硝酸化処理に及ぼす BOD 濃度、pH、アルカリ度の影響を明らかにするとともに、許容  $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度を明らかにする。
- 3) 実排水の部分亜硝酸化処理水から SS を除去する方策について、凝集処理について、有効な凝集剤の種類、組み合わせを明らかにする。
- 4) 実排水の部分亜硝酸化処理水から SS を除去した処理水を対象として、Anammox 処理を行う。この処理における流入 BOD、SS 濃度の影響を連続処理試験で明らかにする。

5) 低濃度排水への Anammox 処理の可能性を明らかにする目的で、流入  $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$  濃度を 100mg/l 以下の排水を室温条件下でどの程度の排水まで処理できるか検討する。

6) SNAP 法に適したスケールアップ可能なリアクタの開発を行う。

## 6. 研究費獲得状況 (Anammox 関係で獲得した外部資金)

### <科研費>

基盤研究 (B) (1) 代表：部分亜硝酸化と Anammox の組み合わせによる新規窒素除去プロセスの開発、平成 18 年度 410 万円、平成 16 年～18 年

### <環境省廃棄物処理等科学研究費補助金>

バイオガス化プラント排水中の高濃度アンモニアの MAP-ANAMMOX ハイブリッド処理技術の開発、平成 18 年度 2,730 万円、平成 18 年～20 年

### <共同研究>

荏原環境エンジニアリング(株) 190 万円

(株)タクマ 150 万円

### <奨学寄附金>

アサヒビール株式会社、100 万円

株式会社 クラレ、100 万円

オルガノ株式会社、100 万円

日立プラント株式会社、50 万円

## 7. 研究発表、特許状況 (Anammox に関する平成 18 年度の成果)

### 1) 国内誌 (和文)

- ・ 古川憲治：排水処理技術の開発動向、化学工学、Vol. 70, No. 11, pp. 604-607 (2006. 11)招待論文
- ・ 古川憲治：実用化に入ってきた anammox 技術、Vol. 70, No. 11, pp. 608-611 (2006. 11)招待論文

### 2) 国際誌

- ・ Pham Khac Lieu, Hayato Homan, Atuhiro Kurogi, Uasunori Kawagoshi, Takao Fujii and Kenji Furukawa: Characteristics of Sludge from Single -Stage Nitrogen Removal Using Anammox and Partial Nitritation(SNAP), Japanese J. of Water Treatment Biology, Vol.42, No.2, pp.53-64 (2006)
- ・ K. Furukawa, P. K. Lieu, H. Tokitoh and T. Fujii, Development of Single-stage

Nitrogen Removal Using anammox and Partial Nitrification (SNAP and its Treatment Performances, Water Science & Technology, Vol. 53, No.6, pp.83-90 (2006)

- Tran Thi Hien Hoa, Luong Ngoc Khanh, Liu Zhijung, Takao Fujii, Joseph D. Rouse and Kenji Furukawa, Nitrogen removal by immobilized anammox sludge using PVA gel as biocarrer, Japanese J. of Water Treatment Biology, Vol.42, No.3, pp.139-149 (2006)
- Tran Thi Hien Hoa, Luong Ngoc Khanh, Liu Zhijung, Takao Fujii, Muneshige Kinoshita, Hiroyuki Okamoto and Kenji Furukawa, Anammox Treatment Performance using Malt Ceramics as a Biomass Carrier, Japanese J. of Water Treatment Biology, Vol.42, No.4, pp.159-168 (2006)
- Munetaka Shimamura, Takashi Nishiyama, Hiroyuki Shigetomo, Takeshi Toyomoto, Yuka Kawahara, Kenji Furukawa and Takao Fujii, Isolation of Multiheme Protein with Features of a Hydrazine-Oxidizing Enzyme from an Anaerobic Ammonium-Oxidizing Enrichment Culture, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 73, No.4, pp.1065-1072 (2007)

### 3) 特許

なし

### 4) 原著以外による発表

- Ca The Ha, Van Chieu, Kieu Anh Trung, CaThe Anh, Trung Quan, Kenji Furukawa, Pham Khac Lieu and Takao Fujii, An evidence for the contribution of Anammox process in nitrogen removal from groundwater, pp.277-284, The 6<sup>th</sup> General Seminar of the Core University Program, “Environmental Science and Technology for Sustainability of ASIA” 2006.10.2-4
- Pham Khac Lieu, Hiroyuki Tokitoh, Hayato Homan, Atuhiro Kurogi and Kenji Furukawa, Development of novel nitrogen removal process using anammox and partial nitrification and its application to landfill leachate, pp.305-312, The 6<sup>th</sup> General Seminar of the Core University Program, “Environmental Science and Technology for Sustainability of ASIA” 2006.10.2-4
- 古川憲治 : Application of Anammox Technology for the removal of high strength Ammonium Polluted Wastewater and Swim Bed Technology for Advanced Wastewater Treatment, 2007 中日土木工学分野学術共同セミナー講演集、(北京工業大学) 2007. 1.8

## 5) 口頭発表

### <分子生物学会>

- T. Nishiyama, M. Shimamura, K. Furukawa and T. Fujii: A heme protein from an anaerobic ammonium-oxidizing biomass having the features conforming to those of a putative hydrazine-oxidizing enzyme, 29<sup>th</sup> Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 1p-B-239 (2006.6)

### <日本生物工学会平成 18 年度大会> 大阪大学豊中キャンパス、2006. 9. 11-13

- 藤井隆夫、古川憲治：嫌気性アンモニア酸化 (ANAMMOX) の反応機構と微生物複合システム解析、日本生物工学会大会講演概要集、p. 83 (2006. 9)
- 西山孝、川原優香、豊本健志、島村宗孝、古川憲治、藤井隆夫：Anammox 菌のヒドラジン酸化酵素遺伝子近傍の構造と転写解析、日本生物工学会大会講演概要集、p. 83 (2006. 9)

### <平成 18 年度日本水処理生物学会大会> 仙台市宮城県民会館、2006. 11. 15-17

- 古川憲治：「実用化間近となった Anammox 技術」、下水道分野研究集会：「生物処理の新しい展開」、2006. 11. 15
- 山本太一、古川憲治、高木啓太、小山登一郎：部分亜硝酸化と Anammox を組み合わせた養豚廃水処理に関する研究
- 稲富泰彦、秦浩平、山本洋充、藤井隆夫、古川憲治：Anammox 汚泥の大量調整プロトコルに関する研究
- 秦浩平、古川憲治、藤井隆夫：Anammox リアクタ立ち上げにおける影響因子の検討
- Sen Qiao, Kenji Furukawa, Toichiro Koyama : Studies on the start-up of anammox process using net type acrylic fiber biomass carrier
- 宝満隼人、小山登一郎、古川憲治：単一槽型 Anammox プロセス「SNAP 法」を活用した埋立地浸出水の窒素除去

### <平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会> (平成 18 年 3 月 9 日、九州共立大学)

- Khanh Luong、古川憲治、Tran Thi Hien Hoa、岡本 裕行：モルトセラミックスを利用する Anammox リアクタの処理性能、平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演要旨集 CO-ROM, pp. 981-872.
- 檜原雄一郎、古川憲治、波戸崎律子：SNAP 処理に及ぼす運転操作因子の検討, pp. 873-874.
- 劉成良、古川憲治：Anammox application to low strength ammonium

containing wastewater, 平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演要旨集 CO-ROM, pp. 875-876.

- ・ 喬 森、小山登一郎、古川憲治：部分亜硝酸化を用いた消化脱離液の処理に関する研究，平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演要旨集 CO-ROM, pp. 877-878.
- ・ 秦 浩平、稲富泰彦、古川憲治、西山 孝、藤井隆夫：Anammox リアクタの早期立ち上げに関する検討，平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演要旨集 CO-ROM, pp. 893-894.
- ・ 古賀絢三、秦 浩平、藤井隆夫、古川憲治：Anammox リアクタ立ち上げにおける影響因子の検討，平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演要旨集 CO-ROM, pp. 895-896.

＜平成 18 年度水環境学会九州支部発表会＞（平成 18 年 3 月 8 日九州産業大学）

- ・ 山本太一、古川憲治、高木啓太、小山登一郎：Anammox プロセスを用いた養豚廃水の脱離液処理に関する研究、平成 18 年度水環境学会九州支部研究発表会講演要旨集, pp. 7-8.

＜平成 18 年度に在籍する博士後期課程学生者数＞

学 年	人 数	内 訳
D3	3	国際大学院コース（国費）1 名（ベトナム） 国際大学院コース（私費）1 名（中国） 社会人 1 名（日本人）
D2	1	国際大学院コース（国費）1 名（中国）
D1	3 名	国際大学院コース（国費）1 名（中国） 私費留学生 2 名（中国）

＜平成 19 年度入学予定者＞

和歌山県工業技術センターの研究員 1 名が博士後期課程に入学する。

## 平成 18 年度研究成果報告書

### 水環境汚染物質の動態評価研究拠点の構築

研究科題名：

- (A) 水環境汚染物質の生物モニタリング (湯 岳琴)
- (B) 水環境汚染物質のバイオ・レミディエーション (木田建次、森村 茂)

所属・氏名：大学院自然科学研究科 木田建次、森村 茂、湯 岳琴

#### 1. 研究目的・目標

[平成 15 年度～21 年度における目的・目標]

水環境汚染物質のバイオ・レミディエーション領域では、食品や醸造もしくは畜産産業等から排出される有機物濃度の高い廃水・廃棄物をメタン発酵によるサーマルリサイクルやバイオテクノロジーを駆使してリサイクル・有効利用するプロセスを確立することにより、内陸部の環境負荷削減を図る。また水環境汚染物質の生物モニタリングでは、疲弊した干潟の菌叢を解析し、干潟の浄化能を再生する技術を確立することを目標とする。

[平成 18 年度の目的・目標]

水環境汚染物質のバイオ・レミディエーション領域においては、①天然ホルモン様物質完全分解のための生物学的・物理化学的処理プロセスの検討、および②焼酎蒸留廃液からの健康酢製造技術の開発と機能性評価を目指した。また、水環境汚染物質の生物モニタリング領域においては、③干潟の浄化能再生技術の開発を目指した。

#### 2. 研究成果

##### 2.1 天然ホルモン様物質完全分解のための生物学的・物理化学的処理プロセスの検討

###### (1) 緒言

内分泌攪乱物質による生態系への影響が大きな問題となっているが、内分泌攪乱物質としては、合成された物質だけでなく天然に存在するホルモンあるいはホルモン様物質の影響が無視できないことがわかってきた。そこで、牛糞尿廃水を例にとり天然ホルモンを完全に分解除去できる処理プロセスの検討を

行った。特に、これまで研究が十分には行われていなかった生物学的処理プロセスにおける天然ホルモンの分解挙動を明らかにすることを目的とした。

## (2) 実験材料および方法

a) 牛糞尿：熊本県の畜産農家から提供された牛糞尿を用いた。牛糞尿は畜舎から地下の貯蔵庫に集められたものを採取し、研究室においてザル(2.5 mm×2.5 mm)とヘラを用いてメッシュろ過し牛糞尿搾汁液として実験に使用した。

b) 処理プロセス：嫌気性処理(高温メタン発酵)→希釈→好気性処理(活性汚泥法)の順に生物学的処理を行い、次にオゾンを用いた物理化学的処理を行う処理プロセスを構築した。各処理段階で、水質汚濁度の指標となる  $\text{COD}_{\text{Cr}}$ ・ $\text{BOD}_5$ などを測定し、有機物の除去率を確認した。

高温メタン発酵には実容積 8 L の機械攪拌型発酵槽を使用し、温度を 56°C に制御した。また槽内液の pH は pH コントローラーにより 7.5 に制御できるようにした。一日に一回の draw-and-fill 方式で処理試験を行った。活性汚泥槽には実容積 1.1 L のアクリル製リアクターを使用し、温度 30°C、通気量 110 mL/min の条件で好気処理した。物理化学的処理としてはオゾン酸化による検討を行った。

c) 環境ホルモン様活性の測定：牛糞尿中には天然ホルモン物質のなかでも、エストロンや 17 $\beta$ -エストラジオールといった天然エストロゲン物質の影響が大きいと推測されたので、エストロゲン活性の検出に酵母 two-hybrid 法を用いて 17 $\beta$ -エストラジオール換算値として示した。

## (3) 実験結果および考察

使用した牛糞尿排水の  $\text{BOD}_5$ ,  $\text{TOC}$ ,  $\text{COD}_{\text{Cr}}$ ,  $\text{SS}$ , total VFA の濃度はそれぞれ 27,600 mg/L, 9,470 mg/L, 25,800 mg/L, 58.6 g/L, 12,700 mg/L と高い濃度であった。また、環境ホルモン様活性は 200 - 900  $\mu\text{g/L}$  (3.3 - 14.8  $\mu\text{g/g dry weight}$ ) であった。TS 負荷 4 g/L/d における高温メタン発酵では、処理水中の  $\text{TOC}$  および  $\text{VSS}$  濃度はほぼ一定に保たれ、有機酸濃度は約 300 mg/L であった。このときのガス発生量は約 8,000 ml/L/d、メタン含量は約 60% であった。また、平均的な環境ホルモン様活性の除去率は約 80% であった。このようにして得られた嫌気性処理水を水道水で 4 倍希釈し、好気性処理を行った。その結果、total-VFA,  $\text{BOD}_5$ ,  $\text{COD}_{\text{Cr}}$ ,  $\text{TOC}$ ,  $\text{TS}$ ,  $\text{VSS}$  をそれぞれ 99.7%, 90%, 79%, 84%, 48%, 60% にまで削減することができた。環境ホルモン様活性も 40 - 100  $\mu\text{g/L}$  まで低下させることができたが、完全には除去できなかったため、オゾン酸化処理を行った。その結果、環境ホルモン様活性を検出限界以下に低減できた。



以上、地球が抱える大きな環境問題の一つである環境ホルモン様物質の問題に関して、合成化合物だけでなく天然ホルモンが広く分布することから、嫌気および好氣的生物処理とオゾン酸化を組み合わせた処理プロセスを研究・開発した。

## 2.2 焼酎蒸留廃液からの健康酢製造技術の開発と機能性評価

### (1) 緒言

焼酎製造の蒸留工程で副生する蒸留廃液（以後、焼酎粕とする）の排出量は、焼酎ブームで焼酎製造量が増加するにしたがい、南九州 4 県だけでも平成 14 年酒造年度で約 47 万 kL、平成 15 年酒造年度で約 60 万 kL、平成 16 年酒造年度には約 85 万 kL と、年々大幅に増加している。焼酎は蒸留酒であるため、他の酒類に比べてこのように副生物である焼酎粕が多く発生するのが問題である。焼酎粕は BOD が 35,000 - 80,000 mg/L もある高濃度有機性廃水であるため、処理が困難である。したがって、これまでの焼酎粕の処理法としては海洋投棄や焼却が主流であり、一部は飼料化や特殊肥料化などによる利活用が行なわれている程度であった。しかし、環境側面への配慮などから焼却処理は難しく、ロンドン条約によって海洋投棄が禁止されることになり、畑地還元も禁止する方針である。

このように、焼酎粕は高濃度の有機物を含み大きな環境負荷となっているが、同時に、原料や麹あるいは酵母由来のタンパク質、糖質、脂質、ペプチド、各種アミノ酸、ビタミンおよびその他の有効成分を豊富に含む有用素材でもある。われわれは、焼酎粕を新規な未利用資源として捉え、環境負荷軽減に繋がる排出量削減と有効利用を同時に達成することを目指して、焼酎粕からの機能性醸造酢製造を組み込んだゼロエミッション型の新規焼酎製造プロセスを開発し、実証試験を行ってきた。開発したプロセスに関しては実用化の段階に達したので、次は、製造した醸造酢が確かにヒトの健康維持に寄与できる機能性を有することを実証するために、生理活性の評価および作用機序の解明が必要である。

昨年度は抗腫瘍活性評価の結果を中心に報告したので、今年度は抗ラジカル活性について評価した結果を報告する。*In vitro* での抗酸化活性は、米焼酎粕および醸造酢を用いて H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> によるヒト肝がん細胞株 HepG2 への酸化ストレスによる細胞障害に対する細胞保護活性を中心に検討した。また、*in vivo* での抗酸化活性は、CCl<sub>4</sub> によるマウス急性肝障害モデルを用いて各サンプルの経口投与による肝障害の軽減効果を検討した。

## (2) 材料および実験方法

a) 米焼酎粕および醸造酢：米焼酎粕は、熊本県球磨地方の米焼酎メーカーから提供された新鮮なものを用いた。醸造酢を製造するための酢酸発酵には、(財)発酵研究所から購入したクエン酸耐性を有する酢酸菌 *Acetobacter aceti* IFO 3283 を用いた。酢酸菌を培養する際に使用した培地はすべて 121°C、20 分間の条件で滅菌したものを用いた。実験に使用した醸造酢は昨年報告した方法で製造し、凍結乾燥 (DF-010H、日本真空(株)) した。得られた凍結乾燥物は、10 mM リン酸緩衝溶液 (PBS) で再溶解したものを細胞試験に使用し、動物試験で使用する際は、滅菌した生理食塩水で再懸濁した溶液もしくは凍結乾燥物を合成飼料に混ぜて使用した。

b) *In vitro* 評価：米焼酎粕および醸造酢の過酸化脂質ラジカル生成抑制活性の測定は、ルミノール依存性化学発光法に従って行った。96 穴マイクロプレートを用い、各ウェルにリン酸緩衝溶液 125  $\mu$ L、10 mM ジエチレントリアミン 5 酢酸 25  $\mu$ L、300 mM t-BuOOH 25  $\mu$ L、100 mM ルミノール 25  $\mu$ L、エタノール/PBS (2/1) 溶液に様々な濃度で溶解させた抗酸化活性物質 25  $\mu$ L を入れ、ケミカルルミネッセンス装置 (大日本製薬(株)) で測定した。反応は、210 秒間、37°C で攪拌を行った後、100 mg/L ヘモグロビンを 25  $\mu$ L 添加し測定を開始した。ルミノールの蛍光強度を 50% に抑制する反応液中のサンプル濃度を IPOX<sub>50</sub> 値として表した。

ヒト肝細胞培養株 HepG2 はヒューマンサイエンスより購入し、Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) に 10% FBS を加え、100  $\mu$ g/mL ストレプトマイシンおよび 100 units/mL ペニシリンを添加した培地を用いて、37°C、5% CO<sub>2</sub> 雰囲気下で培養した。ヒト肝細胞がん細胞株 HepG2 への H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による酸化ストレスに対する抗酸化活性は以下の手順で行った。はじめに、酸化ストレス H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を用いた試験を行う前に、米焼酎粕および醸造酢に対する細胞毒性試験を行った。対数増殖期にある HepG2 を 96 穴平底マイクロプレートに播き、37°C、5% CO<sub>2</sub> 雰囲気下で一晩インキュベートした。HepG2 (10<sup>4</sup> cells/well) に、濃度を変化させた各サンプルを添加し、37°C、5% CO<sub>2</sub> 雰囲気下で 24 時間インキュベートした。24 時間後、HepG2 の生存率を MTT 法の改変である WST-8 法により測定した。その後、細胞毒性を示さなかった濃度範囲で、酸化ストレス H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を用いた米焼酎粕および醸造酢の抗酸化活性試験を行った。抗酸化活性試験は、control 群 (1.0 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を 1 時間作用させた群)、米焼酎粕群 (各濃度の米焼酎粕を 23 時間作用させ、23 時間後に洗浄し、1.0 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を 1 時間作用させた群) および醸造

酢群（各濃度の米焼酎粕を 23 時間作用させ、23 時間後に洗浄し、1.0 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を 1 時間作用させた群）を設けて行った。細胞の酸化の指標として過酸化脂質および GSH を測定し、control 群とサンプル群との比較を行い検討した。過酸化脂質は thiobarbituric acid (TBA) 法により測定し、GSH は 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) 法を用いて測定した。

c) *In vivo* 評価：日本 SLC 株式会社（浜松市）より購入した 5 週令の雄性 ddY マウスを使用した。マウスは 22±1°C、湿度 55±5% に制御された動物飼育室で飼育し、1 ケージ 5 匹で飼育した。飼料および飲料水は自由摂取とし、午前 7 時から午後 7 時まで点灯する 12 時間の明暗周期とした。動物実験はすべて熊本大学動物実験指針にしたがって行った。

CCl<sub>4</sub> によるマウス急性肝障害モデルを用いた抗酸化活性は以下の手順で行った。AIN-93G を基準に抗酸化物である 2,6-bis (1,1-dimethylethyl) -4-methylphenol (BHT) を除いた合成飼料を作製した。米焼酎粕および醸造酢を用いて CCl<sub>4</sub> による急性肝障害に対する抑制試験を行った。CCl<sub>4</sub> は、肝代謝により CCl<sub>3</sub>・を生じ、それに続くラジカル反応により肝細胞を傷害し肝障害を引き起こす。購入した 5 週令の雄性 ddY マウスは、飼料および飲料水を自由摂取で与え、1 週間の予備飼育を行い、試験を開始した。飼料は、上述した合成飼料をすべての群のマウスに試験期間中に自由摂取させた。CCl<sub>4</sub> に対する肝障害抑制試験は、実験群を 200, 400, 800 mg/kg の米焼酎粕および醸造酢、100 μmol/kg の tyrosol、基本食を与えた CCl<sub>4</sub> 処理のみの群 (control 群) および CCl<sub>4</sub> 処理なしの群 (normal 群) の計 9 群を設けて行った。各サンプルはゾンデを用いて 10 mL/kg で 5 日間連続経口投与し、6 日目に 10% (v/v) CCl<sub>4</sub>/大豆油を腹腔内に投与した。Control および normal 群は生理食塩水のみを経口投与した。CCl<sub>4</sub> を腹腔内に投与して 20 時間後、マウスを麻酔により屠殺し、血液および肝臓を採取した。血液から血清を採取し、肝障害の指標である肝臓酵素の AST (GOT) および ALT (GPT) の活性を測定した。また、酸化ストレスによる肝臓の過酸化脂質および GSH レベルを測定し、さらに GSH 関連酵素である GSH Px および GSH Rd の活性を測定した。屠殺した後、肝臓および血清は、各項目を測定するまで -80°C に保存した。ただし、各項目は保存してから 1 週間以内に測定した。

各試験の結果は平均値 ± 標準偏差で示し、有意差検定には t-検定を用いた。危険値 *P* が 0.05 以下であるときに有意差があると定義した。

### (3) 実験結果および考察

#### a) *In vitro* による抗ラジカル活性の評価

過酸化脂質ラジカルに対する抑制活性を測定した結果、米焼酎粕の IPOX<sub>50</sub> 値は 0.005 mL/mL、醸造酢は 0.005 mL/mL であり、ともに高い活性を示した。

米焼酎粕および醸造酢が有する抗酸化活性が生体でも発揮されるかを明らかにするため、はじめに肝細胞 HepG2 を用いて検討した。最初に細胞毒性試験を行った結果、図 2-1 に示したように、米焼酎粕および醸造酢ともに約 2.5 mg/mL まで細胞毒性を示さなかった。したがって、HepG2 を用いた抗酸化活性試験には、米焼酎粕および醸造酢は 0 - 2.5 mg/mL の範囲で行うこととした。

表 2-1 に示したように米焼酎粕および醸造酢で処理した群は、有意に GSH 濃度の減少を抑制した。図 2-1 に示したように 2.5 mg/mL 以上の醸造酢処理では細胞毒性を示していた。したがって、表 2-1 の 2.5 mg/mL の醸造酢では、醸造酢中のフェノール化合物によるラジカル生成により酸化ストレスが生じ GSH が減少し始めたと考えられた。

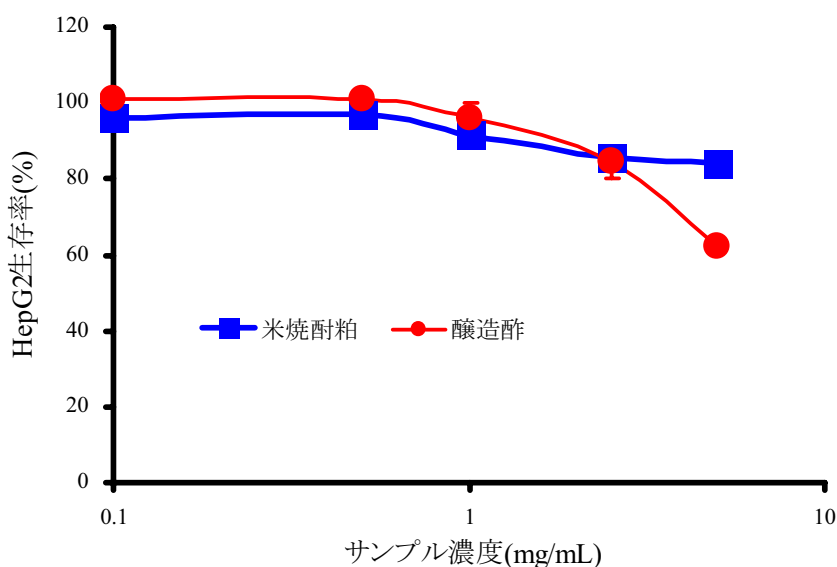


図 2-1 米焼酎粕および醸造酢の HepG2 に対する細胞毒性

表 2-1 HepG2 への H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による酸化ストレスに対する脂質過酸化および細胞内 GSH レベルの減少に対する米焼酎粕および醸造酢の処理による抑制効果。表は平均値 ± SD で表した。\**P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01 vs. control 群。

試験群	TBARS	GSH
未処理 (normal)	0.28 ± 0.08	63.20 ± 7.26
1.0 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (control 群)	0.66 ± 0.07	39.02 ± 5.48
0.25 mg/mL 米焼酎粕+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.38 ± 0.04*	56.48 ± 1.23*
0.5 mg/mL 米焼酎粕+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.30 ± 0.05**	58.16 ± 5.93*
1.25 mg/mL 米焼酎粕+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.31 ± 0.05**	58.03 ± 6.15*
2.5 mg/mL 米焼酎粕+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.22 ± 0.05**	58.84 ± 1.97**
0.25 mg/mL 醸造酢+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.38 ± 0.05**	54.66 ± 7.26*
0.5 mg/mL 醸造酢 + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.27 ± 0.04**	59.78 ± 8.28*
1.25 mg/mL 醸造酢 + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.25 ± 0.05**	57.20 ± 7.28*
2.5 mg/mL 醸造酢 + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.29 ± 0.05**	47.26 ± 4.81*

このように、米焼酎粕および醸造酢はヒト肝細胞がん細胞株 HepG2 に対する抗酸化活性を有していたため、次に、マウスを CCl<sub>4</sub> 処理による急性肝障害モデルを用いて検討した。

図 2-2 に示したように、肝障害の指標となる血清 ALT および AST は、control 群は normal 群と比較して有意に増加した。しかし、米焼酎粕の前投与群では、400 mg/kg 以上の投与で control 群と比較して血清 ALT、AST が有意に減少した。また、醸造酢を前投与した群は、200 – 800 mg/kg の投与で control 群と比較して血清 ALT、AST が有意に減少した。100 μmol/kg の tyrosol 投与においても、control 群と比較して血清 ALT、AST が有意に減少した。さらに、図 2-3 に示したように CCl<sub>4</sub> のみ処置した control 群の肝臓中の過酸化脂質である TBARS 濃度は normal 群と比較して有意に増加した。しかし、米焼酎粕および醸造酢を 200 – 800 mg/kg で前投与することにより、肝臓中の TBARS 濃度が減少した。100 μmol/kg の tyrosol の投与においても、control 群と比較して TBARS 濃度が有意に減少した。以上の結果から、米焼酎粕、醸造酢および tyrosol の前投与により、有意に急性肝障害の反応を抑制できることがわかった。

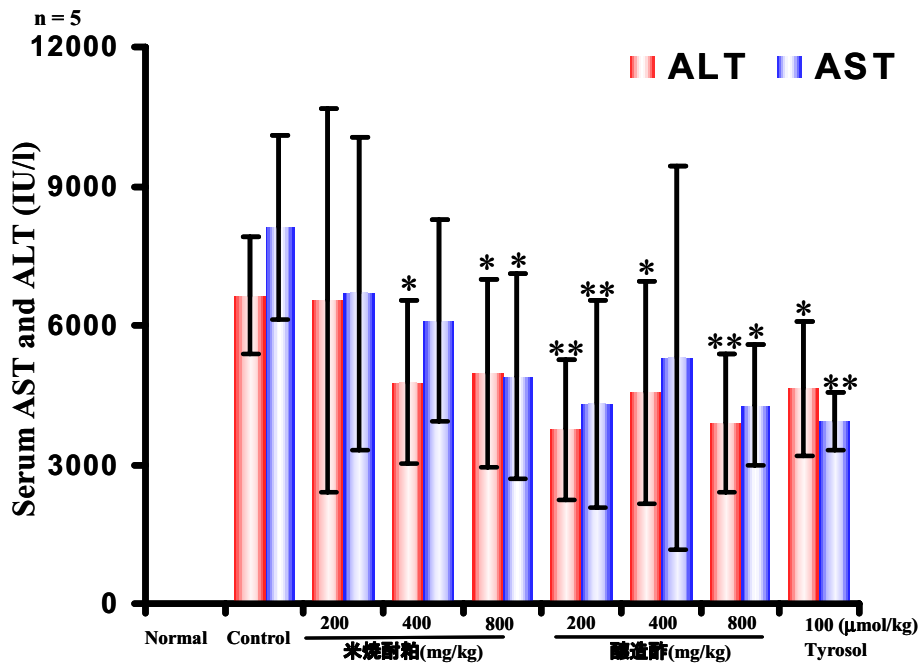


図 2-2 CCl<sub>4</sub>を腹腔内に投与した 20 時間後の各群の血清中の ALT および AST。各サンプルを 5 日間連続経口投与し、6 日目に 10% (v/v)CCl<sub>4</sub>/大豆油を腹腔内に投与した。血清中の AST および ALT の活性を測定した。平均値 ± SD で表した。  
\**P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01 vs. control 群

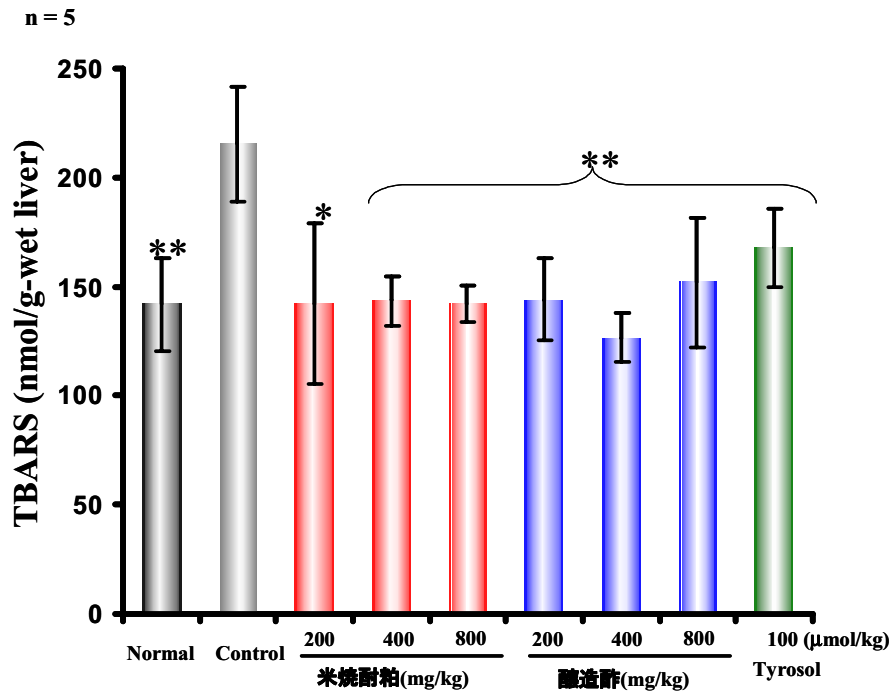


図 2-3 CCl<sub>4</sub>を腹腔内に投与した 20 時間後の各群における肝臓中の過酸化脂質濃度。各サンプルを 5 日間連続経口投与し、6 日目に 10% (v/v)CCl<sub>4</sub>/大豆油を腹腔内に投与した。肝臓の過酸化脂質を測定した。平均値 ± SD で表した。  
\**P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01 vs. control 群。

GSH は、酸化ストレスに対して細胞を保護する役割を持った主要な細胞内抗酸化物質である。図 2-4 に示したように、CCl<sub>4</sub> のみ処置した control 群は、normal 群と比較して顕著に GSH 濃度が減少していた。しかし、400, 800 mg/kg の米焼酎粕の前投与によって、GSH 濃度が有意に増加した。また、醸造酢は 200 – 800 mg/kg の前投与によっても有意に増加した。100 μmol/kg の tyrosol の投与においても、control 群と比較して有意に増加した。GSH 関連酵素として GSH Px および GSH Rd の活性を測定した結果、図 2-5 に示したように、CCl<sub>4</sub> のみ処置した control 群ではそれぞれ約 70%, 約 50%に低下した。しかし、GSH Px 活性は、400, 800 mg/kg の米焼酎粕の前投与によって有意に上昇し、800 mg/kg の醸造酢の前投与によっても有意に上昇した。さらに、GSH Rd 活性は、400, 800 mg/kg の米焼酎粕の前投与によって有意に上昇し、醸造酢の前投与によっても傾向的に活性が上昇した。100 μmol/kg の tyrosol の投与では、control 群と比較して増加する傾向を示した。

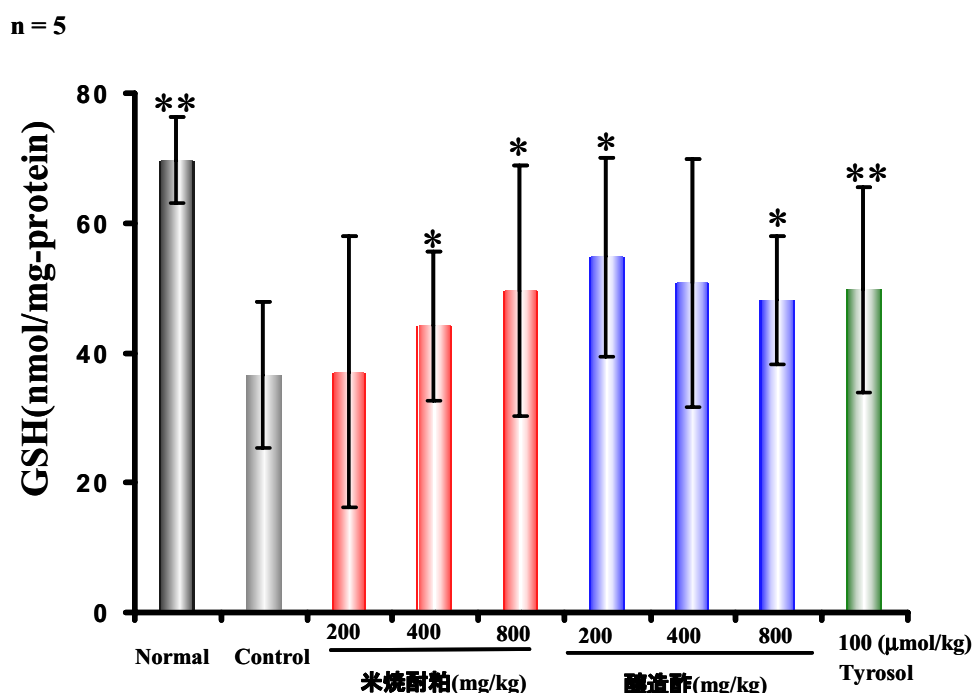


図 2-4 CCl<sub>4</sub> を腹腔内に投与した 20 時間後の各群における肝臓中の GSH 濃度。各サンプルを 5 日間連続経口投与し、6 日目に 10% (v/v) CCl<sub>4</sub>/大豆油を腹腔内に投与した。20 時間後、肝臓中の GSH 濃度を測定した。平均値 ± SD で表した。  
\* $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs. control 群。

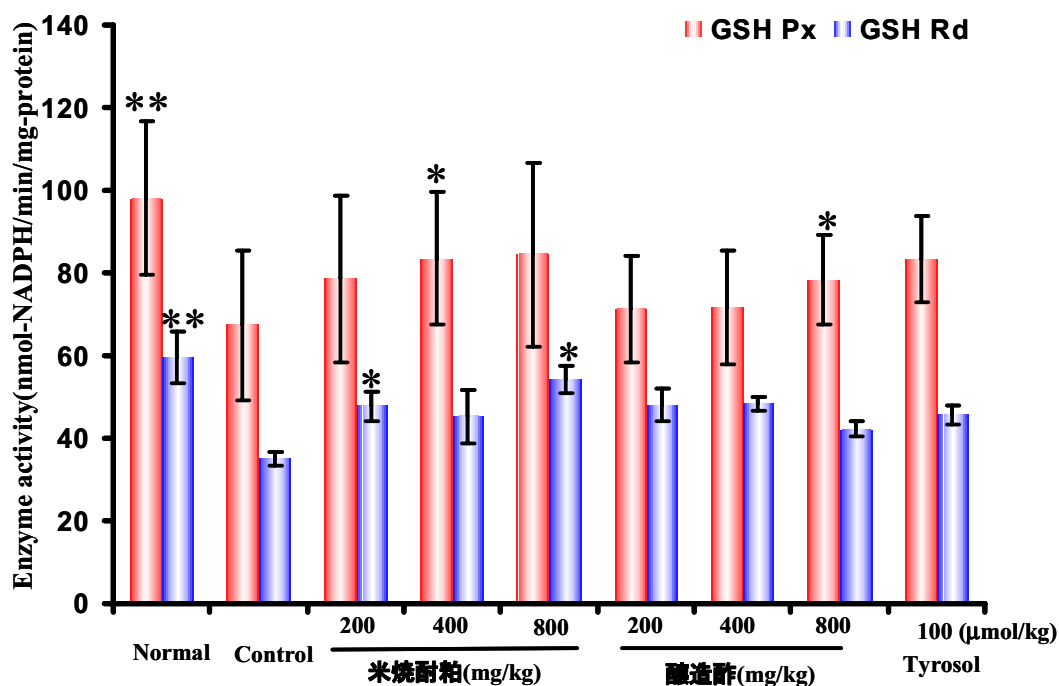


図 2-5 CCl<sub>4</sub> を腹腔内に投与した 20 時間後の各群における肝臓中の GSH Px および GSH Rd 活性。各サンプルを 5 日間連続経口投与し、10% (v/v) CCl<sub>4</sub>/大豆油を腹腔内に投与した後の GSH Px および GSH Rd 活性。平均値 ± SD で表した。  
\* $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs. control 群。

## 2.3 干潟の浄化能再生技術の開発

### (1) 緒言

われわれは干潟環境を改善する上で微生物に着目した。微生物は自然環境における重要な分解者であり、干潟においては好氣的環境と嫌氣的環境の変化の中で好気性微生物と嫌気性微生物が協力し、有機物を分解することで環境浄化に寄与している。このため、微生物に何らかのダメージによる変化が起こることにより、干潟の浄化能力が低下し干潟環境が悪化しているのではないかと考えられる。しかし、どのような微生物がどのような作用により干潟の環境浄化に寄与しているかはほとんど報告されていないのが実情である。

そこで、水位差を利用して堆積物中に上層水を輸送する技術「人工巣穴」を現地に適用し、有機物分解の促進や底質の好気化による干潟底質改善技術の確立を目的とした。そして、人工巣穴設置の効果を分子生物学的手法により微生物レベルで評価した。現地試験は滝川研究室が担当し、われわれは微生物学的解析を行った。



分子生物学的手法を用いて微生物群集の解析を行った理由としては、自然界において培養可能な微生物は0.1～1%程度といわれており、海洋微生物においては海水中で0.001～0.1%、底泥中で0.25%しか培養できないため、培養法による解析では環境微生物群集が十分に反映されないためである。

今回は、微生物が代謝を行う際に働く機能性遺伝子に着目した。機能性遺伝子を標的として微生物群集を解析するメリットとしては、干潟環境において重要な役割を担う物質（窒素や硫黄など）の代謝に関与する微生物をピンポイントで解析できる点にある。ある物質を代謝する機能を持った微生物のポピュレーションの増減やダイバーシティの変化をモニタリングすることができれば、現在の有明海干潟における物質の循環やそこで働く微生物種に対する知見を得ることができ、有明海干潟環境の改善に役立つと考えられる。

## (2) 実験方法

### a) 干潟底泥サンプルからの DNA 抽出

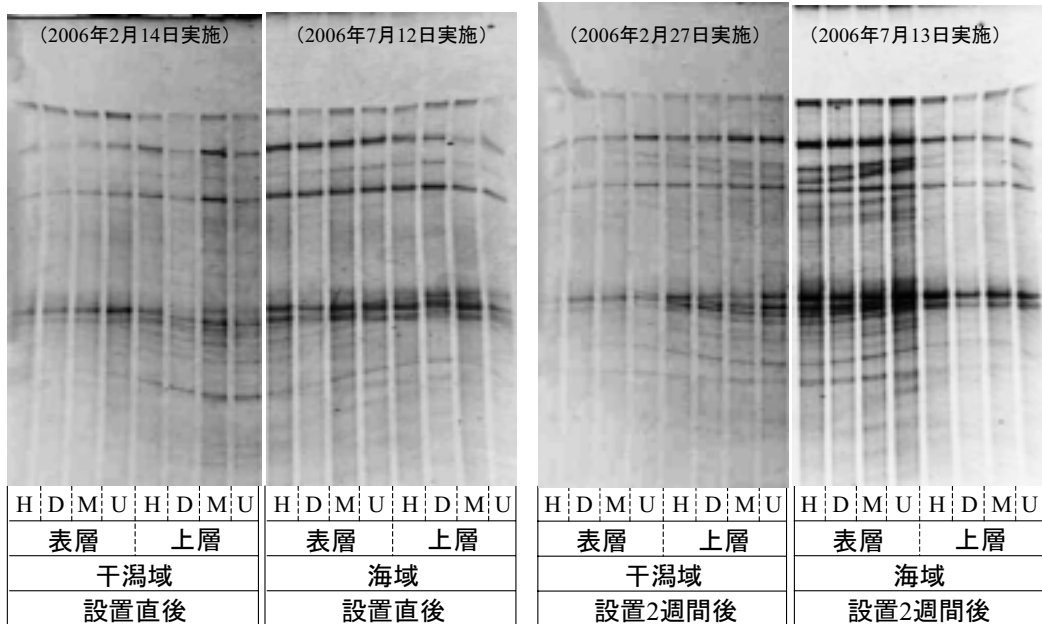
50 ml 容ファルコンチューブに入った干潟底泥サンプルを微量高速遠心機 (TOMY MX-301) で遠心分離し、得られた上清 (間隙水) は 15 ml 容ファルコンチューブに移し、 $-20^{\circ}\text{C}$  で保存した。遠心後、残った底泥に滅菌した  $1\times\text{PBS}$  溶液を加えて懸濁し遠心分離した。上清を捨て、残った底泥に滅菌した  $1\times\text{PBS}$  溶液を加えて懸濁し、これを 6 本の 1.5 ml 容エッペンドルフチューブに分注し、DNA 抽出用サンプルとした。50 ml 容ファルコンチューブに残った懸濁物は  $10,000\text{ rpm}\cdot 4^{\circ}\text{C}\cdot 10$  分間遠心分離し、上清を捨てた後  $-80^{\circ}\text{C}$  で保存した。DNA 抽出には Fast DNA SPIN Kit for Soil を使用した。

### b) DGGE 法による機能性遺伝子を標的とした微生物群集の解析

硫黄代謝に関係する *dsrB* および窒素代謝に関係する *amoA*, *nirS* の 3 種類の機能性遺伝子に着目し、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) により解析した。文献調査を行うことで各遺伝子を PCR 増幅するための primer を設計し、最適な反応条件で 35 cycle の PCR 反応を行った。DGGE における泳動条件は、予備検討によって決定した。

(3) 結果と考察

a) 硫酸還元菌の *dsrB* 遺伝子領域を標的とした DGGE



H: 巣穴を設置していない比較区、D: ドレーンタイプ設置区、M: MAXドレーンタイプ設置区、U: U字タイプ設置区

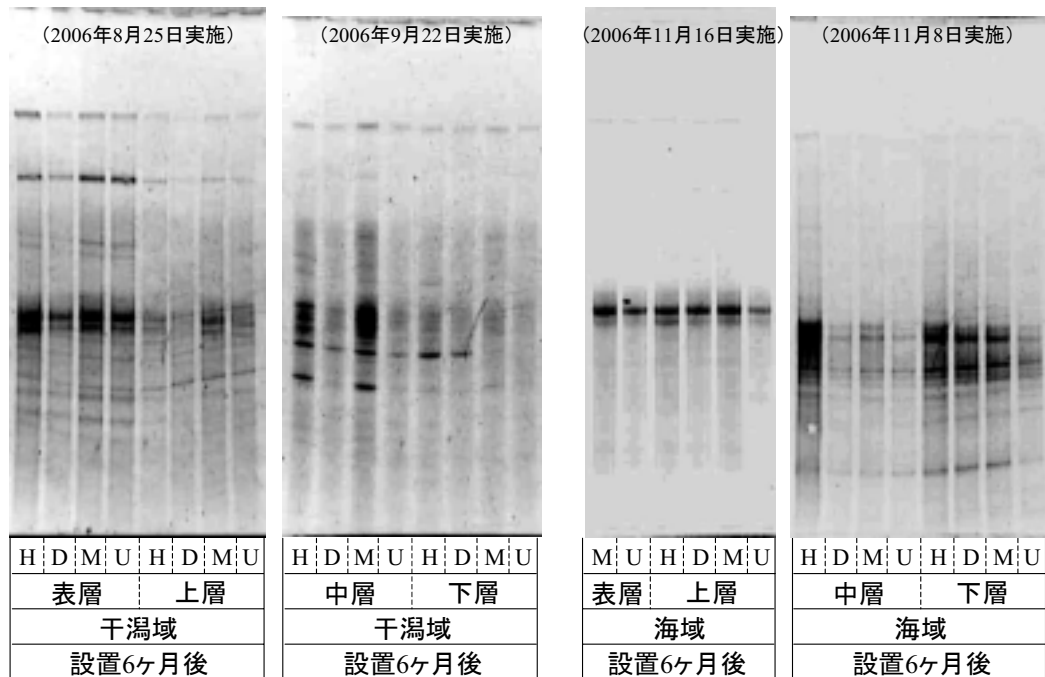
Fig. 3-1 人工巣穴設置直後サンプルにおける *dsrB* 遺伝子領域を標的とした DGGE

人工巣穴設置直後の干潟域においては、表層よりも上層の方が得られたバンドの本数が多かった。これは、表層が上層よりも好気的な環境であるため、嫌気性の硫酸還元菌のポピュレーションが低いためであると考えられた。海域においては表層と上層でのバンドパターンに顕著な差は見られなかった。これは、海域は表層も常に海水で覆われているため、海域の表層が干潟域の表層よりも嫌気的な環境であることが要因であると考えられた。設置直後のそれぞれのサンプルから得られたバンドパターンと比較区から得られたバンドパターンを比較したところ、顕著な変化は見られなかった。

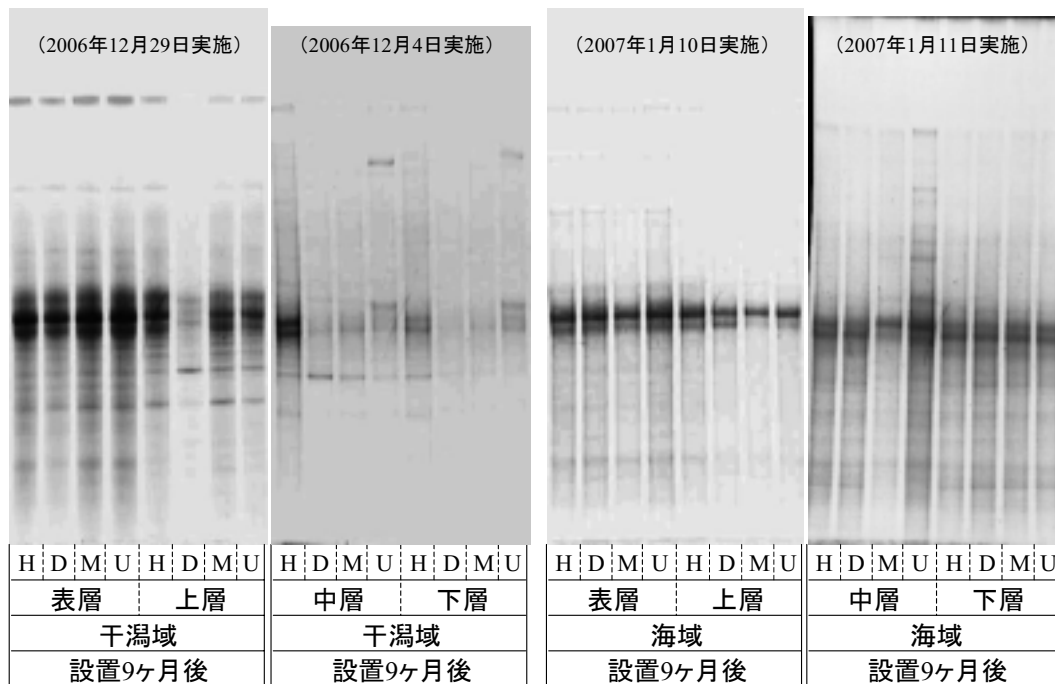
人工巣穴設置 2 週間後では設置直後と同様に干潟域においては表層よりも上層の方がバンドの本数が多かった。海域においては上層よりも表層の方が強いバンドパターンが検出された。設置 2 週間後のそれぞれのサンプルから得られたバンドパターンと比較区から得られたバンドパターンを比較したところ、設置直後と同様に顕著な変化は見られなかった。このことから、人工巣穴の大きな効果は設置 2 週間ではまだ現れていないことが示唆された。

人工巣穴設置 6 ヶ月後では、表層と上層でから得られたバンドパターンにはほとんど相違は見られなかった。しかし、中層および下層では設置 2 週間後までは見られなかった顕著な変化が見られた。中層においては比較区から得られたパターンに比べてドレーンタイプと U 字タイプのパターンが明らかに薄くな

っていた。また、下層においては比較区のパターンに比べてMAXドレーンタイプとU字タイプのパターンが明らかに薄くなっていた。このように、人工巣穴を設置したサイトの底質が好氣的になり嫌気性の硫酸還元菌のポピュレーションが減少したことを示唆していた。



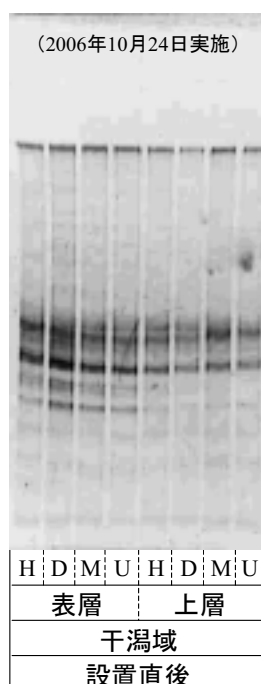
H: 巣穴を設置していない比較区、D:ドレーンタイプ設置区、M:MAXドレーンタイプ設置区、U:U字タイプ設置区  
 Fig. 3-2 人工巣穴設置6ヵ月後サンプルにおける *dsrB* 遺伝子領域を標的としたDGGE



H: 巣穴を設置していない比較区、D:ドレーンタイプ設置区、M:MAXドレーンタイプ設置区、U:U字タイプ設置区  
 Fig. 3-3 人工巣穴設置9ヵ月後サンプルにおける *dsrB* 遺伝子領域を標的としたDGGE

人工巣穴設置 9 ヶ月後サンプルでは、ドレーンタイプおよび MAX ドレーンタイプを設置した区域のバンドパターンが比較区に比べて顕著に薄くなっていた。また、U 字タイプも比較区より若干バンドが薄くなり、上部のバンドが鮮明に見られた。海域サンプルについては表層から下層まで比較区と人工巣穴設置区のバンドパターンに変化は見られなかった。海域では底泥が常に海水の下にあるために人工巣穴を設置しても干潟域のように好気的な状態に変遷しないことが示唆された。

b) アンモニア酸化細菌の *amoA* 遺伝子領域を標的とした DGGE



H : 巣穴を設置していない比較区、D : ドレーンタイプ設置区、  
M : MAX ドレーンタイプ設置区、U : U 字タイプ設置区

Fig. 3-4 人工巣穴設置直後サンプルにおける *amoA* 遺伝子領域を標的とした DGGE

人工巣穴設置直後では比較区と人工巣穴設置区のバンドパターンに顕著な違いは見られなかった。表層に比べて上層では全体的にバンドが薄かったが、これは深度が深くなるにつれて窒素源が少なくなるためにアンモニア酸化細菌のポピュレーションが減少するためであると考えられた。

*amoA* 遺伝子領域を標的とした DGGE は人工巣穴設置直後においては行うことができたが、それ以降のサンプルについては PCR 増幅が起こらなかった。この結果から *amoA* 遺伝子領域は干潟環境の微生物群集の解析には不適であると考えた。

c) 脱窒菌の *nirS* 遺伝子領域を標的とした DGGE

人工巣穴設置直後サンプルでは干潟域と海域ともに比較区サンプルと人工巣穴設置区域サンプルのバンドパターンに顕著な変化は見られなかった。しかし、設置 9 ヶ月後サンプルでは干潟域の上層においてドレーンタイプ設置区サンプルのバンドパターンが比較区に比べて非常に薄くなっていた。本サンプルは DGGE サンプル調製用の PCR において増幅が起こりにくく、DGGE サンプル濃度も他に比べて薄かった。DGGE の結果だけでは *nirS* 保有微生物に対する人工巣穴設置の影響を評価するのに不十分であると考えられ、今後定量 PCR を合わせて行うことで、人工巣穴設置による *nirS* 保有微生物のポピュレーションへの影響に関する詳細な知見を得ることができると考えられた。

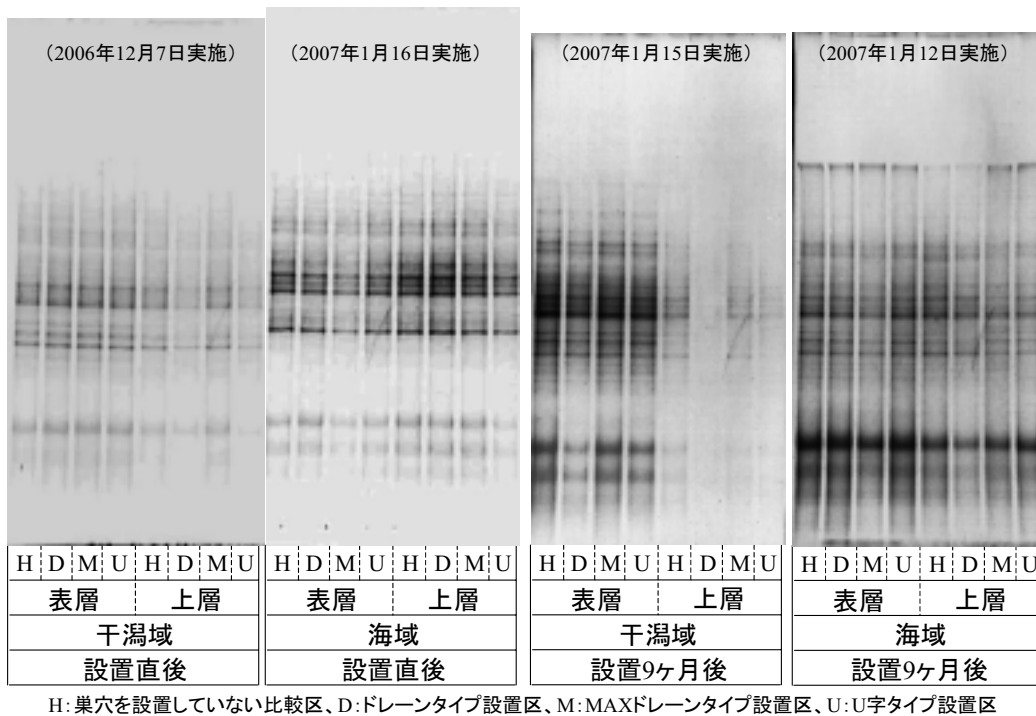


Fig. 3-5 人工巣穴設置直後および設置 9 ヶ月後サンプルにおける *nirS* 遺伝子領域を標的とした DGGE

このように、設置 9 ヶ月後ではドレーンタイプ設置区のバンドパターンが他と比べて薄くなっていた。これは、作製された人工巣穴が本来は中層や下層といった底質深層部に対して効果を発揮するものであったが、9 ヶ月という長期間に渡る設置を行ったことで、深層部で起こった好氣的環境への移行という改善効果が上層へも伝播してきた結果であると考えられた。

生物個体種と量および物理化学的な分析結果では顕著な変化はあまり見られなかったが、微生物の各機能性遺伝子領域を標的とした DGGE においては人工巣穴設置による干潟底質環境の改善効果が確認された。また、その効果は一時的なものではなく、長期設置を行うことで中層や下層から上層へと改善効果が伝播していくものであることも示唆された。

### 3. 成果の達成度

領域 (A) および (B) において十分なる成果を得ることができた。

### 4. 平成 19 年度の目的・目標

領域 (A) では、実際の干潟における酸化還元状態と硫黄サイクルの関係を明らかにし、微生物生態系と干潟環境改善の関係を明らかにしたい。領域 (B) では、環境負荷となる様々な有機系廃棄物のメタン発酵やエタノール発酵を利用した有効利用技術に関して継続して検討を行う。また、食品や醸造工程から排出される有機系バイオマスから機能性食品を製造し、その生理活性や作用機構を明確にすることで高付加価値化を目指す。これらの技術により、従来の中間処分→埋立処分といった既存の処理技術を利活用技術に変換することで、陸上負荷の軽減や地球温暖化防止につなげたい。

### 5. 平成 18 年度の研究費取得状況

- (1) 受託研究 (NEDO)、2006年、9,528,750円、バイオマスエネルギー高効率転換技術開発／バイオマスエネルギー先導研究開発／都市型バイオマス資源からの高効率二段発酵による燃料用エタノール製造技術の開発
- (2) 受託研究 ((株)りゅうせき)、2006年、7,692,543円、環境省 平成18年度地球温暖化対策技術開発事業 (沖縄産糖蜜からの燃料用エタノール生産プロセス開発及びE3等実証実験／沖縄産糖蜜の適用性等に関する研究開発)
- (3) 受託研究 (九州沖縄農業研究センター)、2006年、4,000,000円、林産残さ、食品残さ等未利用バイオマスの循環・利用システムの開発
- (4) 受託研究 (九州沖縄農業研究センター)、2006年、3,000,000円、南九州畑作地域におけるゼロエミッション型カスケード利用システムの開発
- (5) 科学技術振興調整費 (熊本大学代表：滝川先生)、2006年、7,033,800円、底質機能の微生物学的評価と改善技術の検討

- (6) 科研費、2006年、1,900,000円、天然ホルモン除去を含む家畜糞尿・生ごみ混合物の高効率サーマルリサイクル技術の開発
- (7) 科研費、2006年、1,600,000円、焼酎蒸留廃液有効利用のための抗腫瘍活性成分の解明
- (8) 科研費、2006年、900,000円、焼酎粕および焼酎粕から製造した醸造酢が有するマウス固形腫瘍の増殖抑制機序の解明
- (9) 共同研究（瑞鷹(株)）、2006年、2,700,000円、ゼロエミッション焼酎・健康酢製造技術の実証と事業化
- (10) 共同研究（(株)バイファ）、2006年、2,150,000円、廃酵母廃液処理方法の検討
- (11) 共同研究（南国興産(株)）、2006年、872,000円、有機性廃棄物のサーマルリサイクルに関する研究
- (12) 共同研究（北海道農業協同組合中央会）、2006年、900,000円、農産物からのバイオエタノール生産システムの構築
- (13) 共同研究（東京瓦斯(株)）、2006年、1,530,000円、発酵に関する共同研究
- (14) 寄付金（南国興産(株)）、2006年、1,800,000円
- (15) 寄付金（(財)アルコール協会）、2006年、947,652円
- (16) 寄付金（くまもとテクノ産業財団）、2006年、950,000円、生ゴミの鮮度保持技術およびその利活用技術の開発
- (17) 寄付金（九州電技開発(株)）、2006年、900,000円
- (18) 寄付金（新日鉄エンジニアリング(株)）、2006年、900,000円

## 7. 平成18年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表 計10件

#### a) 和文誌

- 1) 森村 茂、重松 亨、劉 凱、緒方智成、野中敬正、木田建次  
発泡ポリスチレン製容器にピリジニウム基を導入した樹脂の微生物付着用担体としての評価、  
廃棄物学会誌、**17**, 135-141 (2006) .
- 2) 稲垣秀一郎、森村 茂、権藤和修、湯 岳琴、芥川浩志、木田建次  
エタノール発酵過程で生成するアポトーシス誘導物質・トリプトフォール  
日本醸造協会誌、**102**, 222-224 (2007)

b) 英文誌

- 1) Tang, Y. Q., An, M. Z., Liu, K., Nagai, S., Shigematsu, T., Morimura, S., Kida, K.  
Ethanol production from acid hydrolysate of wood biomass using the flocculating yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain KF-7.  
Process Biochemistry, **41**, 909-914 (2006).
- 2) Akada, R., Kitagawa, T., Kaneko, S., Toyonaga, D., Ito, S., Kakihara, Y., Hoshida, H., Morimura, S., Kondo, A., Kida, K.  
PCR-mediated seamless gene deletion and marker recycling in *Saccharomyces cerevisiae*.  
Yeast, **23**, 399-405 (2006).
- 3) Shigematsu, T., Era, S., Mizuno, Y., Ninomiya, K., Kamegawa, Y., Morimura, S., Kida, K.  
Microbial community of a mesophilic propionate-degrading methanogenic consortium in chemostat cultivation analyzed based on 16S rRNA and acetate kinase genes.  
Appl. Microbiol. Biotechnol., **72**, 401-415 (2006).
- 4) Liu, K., Tang, Y. Q., Fujimura, Y., Shigematsu, T., Morimura, S., Kida, K.  
Anaerobic digestion of screened swine waste with high concentrations of organic matter and suspended solids using an upflow anaerobic filter reactor.  
Japanese J. Water Treat. Biol., **42**, 93-98 (2006).
- 5) Shigematsu, T., Tang, Y. Q., Mizuno, Y., Kawaguchi, H., Morimura, S., Kida, K.  
Microbial diversity of mesophilic methanogenic consortium that can degrade long-chain fatty acids in chemostat cultivation.  
J. Biosci. Bioenerg., **102**, 535-544 (2006).
- 6) Inagaki, S., Morimura, S., Gondo, K., Tang, Y.Q., Akutagawa H., Kida, K.  
Isolation of tryptophol as an apoptosis-inducing component of vinegar produced from boiled extract of black soybean in human monoblastic leukemia U937 cells.  
Biosci. Biotechnol. Biochem., **71**, 371-379 (2007).
- 7) Ermawati, R., Morimura, S., Tang, Y.Q., Liu, K., Kida, K.  
Degradation and behavior of natural steroid hormones in cow manure waste during biological treatments and ozone oxidation.  
J. Biosci. Bioenerg., **103**, 27-31 (2007).



8) Tang, Y.Q., Shigematsu, T., Morimura, S., Kida, K.

Effect of dilution rate on the microbial structure of a mesophilic butyrate-degrading methanogenic community during continuous cultivation.

Appl. Microbiol. Biotechnol., 2007 Jan 13

(2) 学会発表 計 25 件

- 1) 亀割陽博、廣田正一郎、福田雄典、湯 岳琴、森村 茂、木田建次、増田龍哉、滝川 清「有明海干潟底泥における微生物の機能性遺伝子を標的とした人工巣穴設置効果の評価」第 41 回日本水環境学会年会講演要旨集 p. 279, 大阪産業大学 (平成 19 年 3 月 16 日).
- 2) 牧内貴子、松永正秀、永田 聡、末永貴史、濱田康太郎、和佐野成亮、森村 茂、木田建次「麦焼酎蒸留残渣からの醸造酢製造技術の実証」第 21 回熊本県産学官技術交流会, ウェルシティ熊本 (2007 年 1 月 23 日).
- 3) 和佐野成亮、大城早希子、森村 茂、湯 岳琴、木田建次、牧内貴子、松永正秀、永田 聡、末永貴史、濱田康太郎、「麦焼酎蒸留残渣から製造した醸造酢の生理活性評価」第 21 回熊本県産学官技術交流会, ウェルシティ熊本 (2007 年 1 月 23 日).
- 4) 河野邦晃、宮川博士、奥野博紀、高瀬良和、柏田雅徳、森村 茂、湯 岳琴、木田建次「焼酎粕からの醸造酢製造実証試験」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.20, 鹿児島大学工学部 (2006 年 12 月 9 日).
- 5) 大城早希子、和佐野成亮、森村 茂、湯 岳琴、木田建次「焼酎粕から製造した醸造酢の血小板凝集抑制作用」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.21, 鹿児島大学工学部 (2006 年 12 月 9 日).
- 6) 横尾栄満、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「糖質を基質としたメタン発酵に関与する微生物群集の解析」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.22, 鹿児島大学工学部 (2006 年 12 月 9 日).
- 7) 鷺見昭典、村戸優季、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「廃酵母含有廃液のメタン発酵処理性能に及ぼす前処理の影響」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.23, 鹿児島大学工学部 (2006 年 12 月 9 日).
- 8) 劉 凱、安 明哲、原田良輔、岸川峰和、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「生協食堂残飯からの燃料用エタノール製造に関する研究」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.26, 鹿児島大学工学部 (2006 年 12 月 9 日).

- 9) 劉 凱、安 明哲、張 文学、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「白酒製造工程から排出される発酵廃糟（ソフトバイオマス）からのグルコース回収とエタノール生産の試み」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.27, 鹿児島大学工学部（2006 年 12 月 9 日）.
- 10) 劉 凱、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「農産廃棄物および食品系廃棄物からの燃料用エタノールの製造」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.27, 鹿児島大学工学部（2006 年 12 月 9 日）.
- 11) 亀割陽博、廣田正一郎、福田雄典、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「八代海底泥における 16S rRNA gene を標的とした微生物群集の解析」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.36, 鹿児島大学工学部（2006 年 12 月 9 日）.
- 12) 廣池優明、ラヒヤニエルマワテイ、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「天然ホルモンの嫌気性分解および関与する微生物群集の解析」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.36, 鹿児島大学工学部（2006 年 12 月 9 日）.
- 13) 寺崎万貴、中尾泰彰、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「食品残渣を高機能化するための乳酸菌の単離および飼育における子豚への投与効果」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.50, 鹿児島大学工学部（2006 年 12 月 9 日）.
- 14) 鈴木一巖、森村 茂、湯 岳琴、木田建次「コーヒー酸のエチルエステル化による抗ラジカル活性の向上」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.65, 鹿児島大学工学部（2006 年 12 月 9 日）.
- 15) 稲垣秀一郎、森村 茂、湯 岳琴、木田建次「黒豆大豆煮汁から製造した醸造酢からアポト-シス誘導物質・トリプトフォールの単離とヒト単核球白血病細胞(U937)に対する誘導メカニズム解析」第 13 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.66, 鹿児島大学工学部（2006 年 12 月 9 日）.
- 16) 鈴木一巖、森村 茂、湯 岳琴、木田建次「コーヒー酸のエチルエステル化による抗ラジカル活性の向上」第 11 回日本フードファクター学会（JSoFF）, 犬山国際観光センター(2006 年 11 月 21 日）.
- 17) 張 文学、喬 宗偉、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「窖池での固体発酵期間中の微生物叢の変化」平成 18 年度日本醸造学会大会講演要旨集 p. 25, 北トピア(2006 年 10 月 13 日）.
- 18) 張 文学、張 麗鶯、劉 凱、森村 茂、木田建次「窖池での固体発酵期

間中の香気成分等の経日変化」平成 18 年度日本醸造学会大会講演要旨集 p. 25, 北トピア(2006 年 10 月 13 日).

- 19) 曹 雪源、塚本徹哉、田中晴就、溝下 勤、関 孝弘、森村 茂、前田 浩、立松正衛「ナタネ原油由来 4-vinyl-2,6-dimethoxyphenol [Canolol] のスナネズミ H. pylori 感染および胃発癌の抑制作用」第 65 回日本癌学会学術総会講演要旨集 p.132, パシフィコ横浜 (2006 年 9 月 28 日).
- 20) 関 孝弘、森村 茂、方 軍、曹 雪源、塚本徹哉、立松正衛、前田 浩「ナタネ原油から精製したフェノール化合物 Canolol の炎症抑制効果」第 65 回日本癌学会学術総会講演要旨集 p.132, パシフィコ横浜 (2006 年 9 月 28 日).
- 21) 安 明哲、岡崎克美、劉 凱、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「沖縄産糖蜜からの凝集性酵母を用いた連続発酵による燃料用エタノールの製造」平成 18 年度日本生物工学会大会講演要旨集 p. 122, 大阪大学豊中キャンパス (2006 年 9 月 12 日).
- 22) 劉 凱、安原達也、安 明哲、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「並行複式発酵による生ごみからの燃料用エタノールの製造」平成 18 年度日本生物工学会大会講演要旨集 p. 122, 大阪大学豊中キャンパス (2006 年 9 月 12 日).
- 23) 和佐野成亮、牧内貴子、濱田康太郎、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「麦焼酎蒸留残渣からの醸造酢製造におけるスケールアップの検討および生理活性評価」平成 18 年度日本生物工学会大会講演要旨集 p. 174, 大阪大学豊中キャンパス (2006 年 9 月 12 日).
- 24) 森絵実子、松下洋和、森村 茂、木田建次「紫芋焼酎蒸留残渣から製造した醸造酢の抗ラジカル活性評価」平成 18 年度日本生物工学会大会講演要旨集 p. 175, 大阪大学豊中キャンパス (2006 年 9 月 12 日).
- 25) 中村延博、片平悟史、森村 茂、木田建次、福田秀樹、近藤昭彦「キシロース資化能力賦与酵母によるエタノール生産の実用化への検討」平成 18 年度日本生物工学会大会講演要旨集 p. 211, 大阪大学豊中キャンパス (2006 年 9 月 12 日).

(4) 特許 (平成 18 年度公開) 計 2 件

- 1) 特開 2006-325577 (特願 2005-353820) 「アルコール生産システムおよびアルコール生産方法、ならびに糖生産方法」(2005 年 12 月 7 日出願, 2006 年 12 月 7 日公開)

發明者：木田建次，森村 茂，重松 亨，白井義人

出願人：国立大学法人熊本大学、国立大学法人九州工業大学

- 2) 特開 2006-067977(特願 2004-258833)「焼酎製造方法」(2004年9月6日出願，  
2006年3月16日公開)

發明者：木田建次，重松 亨，森村 茂

出願人：国立大学法人熊本大学

## 平成 18 年度研究成果報告

研究課題名：環境微生物を活用する水・土壌環境修復

所属・氏名：自然科学研究科 社会環境工学専攻 川越保徳

### 1. 研究目的・目標

#### (1) H15 年度～21 年度における目的・目標

高度成長期における水環境に関する公害問題は、高度に汚濁したあるいは有害な化学物質に汚染された産業廃水によって引き起こされ、その対策についてはいかに排出源でそれをくい止めるかが最重要課題であった。すなわち排水処理技術を推進、徹底するとともに、排水水質モニタリング技術の向上が図られた。今日では、このような長年に渡る排出源対策が功を奏し、かつての公害問題が再び繰り返されることはないと考えられる。しかしながら一方で、既に汚染された水・土壌環境への対策は今なお不十分な状況にある。特に地下水中の窒素やリンなどの栄養塩類や内分泌攪乱物質に代表される微量化学物質による水環境汚染は、これまでの排出源対策では対処できず、将来に大きな影響を及ぼす恐れもある。これらに対して、生物工学を活用する廃水・廃棄物処理技術や環境修復技術がその対策の一つとして期待されている。本研究では、有用な環境微生物を活用し、できるだけ現場に即応した実用的な廃水・廃棄物処理、環境修復技術の開発を目的とする。具体的には、我が国だけでなくアジアおよび全世界的に問題となっている窒素をはじめ種々の有害化学物質に汚染された廃水や環境水を、低コストで高速に除去するための基礎技術の確立を目指す。

#### (2) H17 年度における目的・目標

本研究課題については、H15 年に着手して以来、地下水中の硝酸・亜硝酸性窒素の除去に関する研究に携わってきた。窒素による健康影響としては、亜硝酸窒素が血液中のヘモグロビンと結合することで酸欠状態を引き起こす「メトヘモグロビン血症」が知られ、米国では乳児の死亡例もある。また、窒素はリンとともに「栄養塩類」として富栄養化現象の原因物質であることはよく知られているところである。

環境水、あるいは廃水からの窒素除去については、生物学的処理技術が知ら

れており、これは主にアンモニアや有機態窒素を硝酸あるいは亜硝酸にまで酸化（硝化）する硝化細菌と、その逆反応、すなわち硝酸や亜硝酸を窒素ガスに還元（脱窒）する脱窒細菌の働きを利用したものである。生物学的窒素除去は、自然界に存在する微生物を反応を利用し、加えて窒素を大気成分である窒素ガスにまで処理できることから、処理水をアルカリ性にして強制曝気することでアンモニアを揮散するアンモニアストリッピング法などの物理化学的処理に比べて、いわゆる“地球に優しい”技術といえる。しかしながら、脱窒過程では、その反応を担う脱窒細菌が一般には従属栄養細菌であることから炭素源が必要となり、処理水の性状によっては、炭素源の投入によるコストの増大や二次汚染の問題が懸念される。

そこで、川越の研究グループでは、脱窒細菌の炭素源として固体状の生分解性プラスチックを活用する硝酸・亜硝酸性窒素除去技術の確立を目的として検討を行ってきた。H15年度には、生分解性プラスチックを充填した土壌カラムによる硝酸性窒素の還元脱窒除去に関する研究を実施し、生分解性プラスチックとして、ポリ-β-酪酸（poly-β-hydroxybutyrate, 以下 PHB とする）を用いて連続実験を実施し、安定・良好な窒素除去が得られた。H16年度は、PHB 充填土壌カラムによる硝酸性窒素除去メカニズムを明らかにするために、硝酸性窒素濃度と土壌細菌数や細菌叢との関係について MPN 法、PCR-DGGE 法等の分子生物学的手法を用いて解析、検討し、カラム内部での脱窒細菌数および脱窒活性が PHB 充填部位にて最も高く、その下流部においても同細菌数・活性が経時的に増大することでリアクター全体としての窒素除去能が向上することが明らかとなった。また、細菌叢解析の結果から、PHB 加水分解酵素を有し、かつ硝酸還元能が知られる *Ralstonia pickettii* の近縁細菌が、本リアクターの窒素除去に大きく寄与していることが推定された。そこで昨年度は、PHB 土壌カラムリアクターからの PHB 資化性脱窒細菌の単離を試みた。その結果、嫌気条件下にて、クエン酸ナトリウムを単一炭素源とする脱窒細菌生育用の培地上で複数のコロニーが得られ、その一つが PHB ペレットを炭素源とするダーラム管による脱窒試験にて陽性を示したことから、本細菌を PHB 資化性脱窒細菌 K2F と命名した。さらに、K2F 株の pH、温度等の生育条件、および細菌同定のための 16S-rDNA 配列、および細菌同定キットを用いた試験を実施し、本細菌を *Ralstonia pickettii* と同定した。

## 2. H18 年度の研究成果

H18 年度は、これらの知見を踏まえて K2F 株のさらなる微生物学的諸性質の詳細と回分実験・連続実験による K2F 株の硝酸除去能に関する研究を開始した。しかしながら、ここで K2F 株の PHB 資化能力、すなわち K2F 株が PHB を単一炭素源として生育可能であるかどうか疑問が生じた。

H17 年度には、Fig.1 に示すように、PHB ペレット 1 個を炭素源であるクエン酸ナトリウムを除いた Giltay 液体培地に加え、ダーラム管をセットしたのを用いた培養試験にて、K2F 株の PHB 資化能と硝酸脱窒能を確認した。

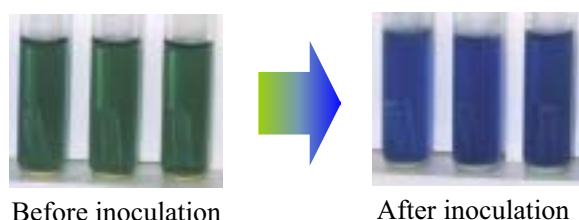


Fig.1 Verification of nitrate reduction by strain K2F due to color change and gas production in anaerobic culture in Giltay liquid medium

Giltay 培地には、硝酸塩と pH 指示薬である BPB が添加されており、培地中の硝酸が還元されることで pH が上昇し、培地の色が緑から青色に変わることによって脱窒反応（硝酸の還元）が間接的に示される。また、ダーラム管には脱窒によって発生した窒素ガスがたまることから、培地の変色とダーラム管内のガスが同時に確認できれば脱窒反応が検証できる。しかし昨年度の試験では、接種源としてクエン酸ナトリウムを炭素源とする Giltay 寒天培地上に生育した細菌塊を接種したため、培地色の変化とガス生成が K2F 株の増殖を伴うものかどうか不明確ではなかった。そこで、本年度は、K2F 株の PHB 資化性能を再確認するとともに、同定結果を検証するための微生物学諸性質に関する試験を実施した。また、昨年度の結果では、8°C の低温環境下で K2F 株の生育が確認されたことや、培養時 pH の変化による K2F 株生育や硝酸脱窒能への影響が示唆されたため、本年度も引き続きそれら生育条件について検討した。

### (1) 単離細菌の PHB 資化性および脱窒能

昨年度に単離された細菌 K2F 株が PHB を単一炭素源として生育可能で、かつ硝酸脱窒能を発現するかどうかを確認するため、PHB 粉末を炭素源とする Giltay 寒天培地を Fig. 2 に示す作成方法に則って調製し、K2F 株を植菌して嫌気培養を行った。種菌には、通常の Giltay 寒天培地に生育した K2F 株を用いた。一白金耳の K2F 株を、マイクロチューブ内でリン酸緩衝液 (pH7.0) に懸濁した後、遠心分離にて集菌し、得られたペレットを同緩衝液と同操作にて 2 回洗浄したものを、同緩衝液にて段階希釈して寒天培地に塗抹植菌した。

- ① 炭素源を除いた Giltay 液体培地に 18.5g/l の寒天を加え、オートクレーブにて 120°C, 15 分間滅菌
- ② 粉末状の PHB を滅菌水に懸濁させて PHB 懸濁液を作成し、超音波破碎機で約 10 分処理
- ③ Giltay 液体培地が固まる前に (60°C 前後)、PHB が最終的に約 0.2% になる様に PHB ストック溶液 ( ) を添加
- ④ PHB 粉末が均一になるように寒天培地を攪拌しながらシャーレに広げ平板培地を作成
- ⑤ K2F 株のコロニーをリン酸緩衝液で調製した  $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$  の細菌希釈液 50  $\mu$ l を塗抹植菌し、嫌気条件下 (アネロパック使用) で培養

Fig. 2 Preparation of PHB-Giltay agar medium and colony formation of strain K2F on the medium

その結果、Fig. 3 に示すように、K2F 株のコロニーが生成され、PHB 粉末による培地の濁りがコロニーを中心とした透明部分 (ハロー) が確認された。また、コロニー生成と同時に培地の色が青変し、硝酸の還元が確認された。以上の結果、および昨年度の結果から、K2F 株が PHB を単一炭素源とし、嫌気条件下で硝酸を電子供与体として生育することが検証された。



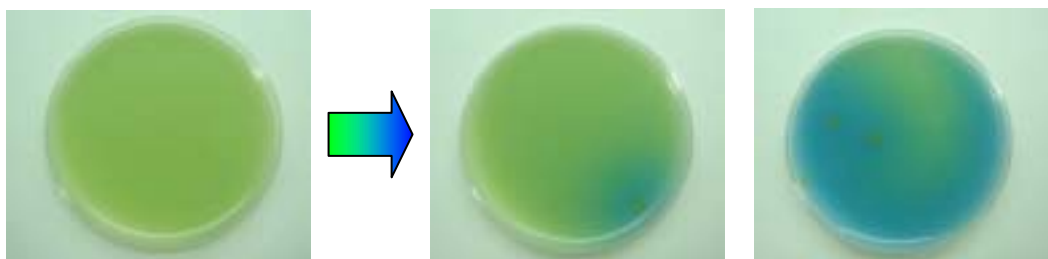


Fig.3 Verification of PHB-utilization and nitrate reducing activity by strain K2F due to colony formation test on PHB-Giltay agar medium

## (2) PHB 資化性脱窒細菌 K2F 株の同定に関する生理学的諸性質

昨年度の実験において、K2F 株は、グラム陰性の桿菌で鞭毛の存在が示唆された。また、16S rRNA のほぼ全長 (1495 bps) の DNA 配列に基づく相同性検索から、K2F 株の 16S rRNA 配列は *Ralstonia mannitolytica* に 100%一致し、*Ralstonia pickettii* に対して 99%以上一致することが分かった。また、グラム陰性細菌同定用の生化学試験キットである API20NE (Biomerieux Japan, Tokyo) を用いて簡易同定試験を行った結果、K2F 株は、*Ralstonia pickettii* に帰属された。昨年度においては、以上の結果を鑑み、K2F 株を *Ralstonia pickettii* と推定した。さらに本年度は、K2F 株の同定のため、関連文献および Bergey's Manual (Ninth Edition) を参照して糖類や炭化水素類の酸性化試験、アルカリ化試験を行った。Table 1 に昨年度の K2F 株の微生物的諸性質に関する試験結果を昨年度に実施したものと合わせて示す。これら諸性質の中で、特に硝酸および亜硝酸還元能、ウレアーゼ活性、マンニトールの酸性化能、酒石酸のアルカリ化能などの性質から、K2F 株を最終的に *Ralstonia pickettii* と同定した。

Table 1 Biochemical properties of isolated bacterial strain K2F

Characteristics	Results	Characteristics	Results	Characteristics	Results
Flagellum	±	Assimilation of		Acid production from	
Growth at 42 °C	variable	Glucose	+	Glucose	+
Catalase	+	L-Arabinose	-	Lactose	+
Oxidase	+	D-Mannose	-	Maltose	+
Indole production	-	Maltose	-	Sucrose	-
Nitrate reduction	+	D-Mannitole	-	Mannitol	-
Nitrite reduction	+	N-Acetyl-D-glucosamine	+	Alcalinization of	
Arginine hydrazase	-	Gluconate	+	Acetate	+
Urease	+	n-Caprata	-	Lactate	+
$\beta$ -glucosidase	-	Adipate	-	Oxalate	-
$\beta$ -galactosidase	-	DL-Malate	+	Tartrate	+
Protease (gelatine)	-	Citrate	+		

### (3) PHB 資化性脱窒細菌 K2F 株の生育条件に及ぼす温度と pH に関する再検討

単離、同定された K2F 株の生育に及ぼす温度、および pH に関して、昨年度に検討を行ったが、温度については 8℃ 下で最も高い増殖を示したこと、あるいは pH5.0 で非常に良好な生育が見られたこと、さらに実験中の機器トラブル等によりこれら温度や pH 条件が安定に維持されていたかについて疑われたことから、本年度も同様の実験を行った。

各温度条件下における菌体濃度 ( $OD_{660}$ ) の経時変化を Fig. 4 に示す。8℃ においては生育は確認されなかった。30℃ では増殖速度がもっとも速く、菌体濃度も  $OD_{660}$  値で 0.45 まで上昇した。20℃ では 30℃ より生育速度は低かったが、最大菌体濃度は同程度となった。温度が上がるにつれて生育は悪化し、40℃ での最大菌体濃度は 0.22 となり、55℃ 下での生育は認められなかった。Fig. 5 に、各温度条件下における硝酸性窒素濃度の経時変化を示す。高い生育速度がみられた 30℃ において、硝酸濃度の減少も速かった。しかしながら、40℃ では亜硝酸の生成が見られなかったのに対し、20℃ と 30℃ では亜硝酸の生成がみられた。これより、温度低下により亜硝酸が残存する傾向が示された。昨年度の結果では、K2F 株は 8℃ 下でも生育し、最適生育温度は 20℃ とされたが、今回の実験では 30℃ において生育速度、脱窒能ともに良好な結果が得られ、8℃ 下での生育は認められなかった。昨年度の実験では、培養中に恒温槽内の温度が変化するなどのトラブルがあったことから、本年度の結果が正しいと考えられる。それ以外については、昨年とほぼ同様の結果が得られた。

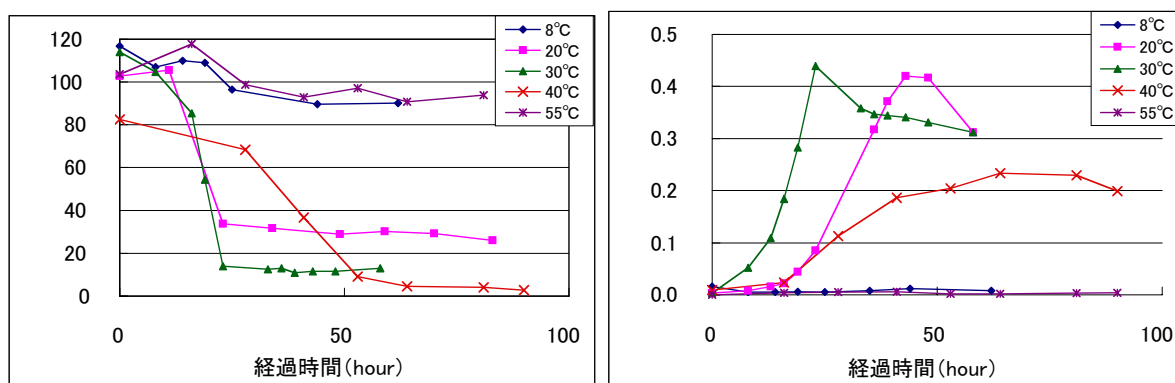


Fig.4 Temperature effect on K2F growth Fig.5 Temperature effect on nitrate reduction

各初期 pH 条件下における菌体濃度 ( $OD_{660}$ ) の経時変化を Fig. 6 に示す。pH 6.0 において生育速度が最も速く、最大菌体濃度も 0.6 程度と高かった。pH 8.0 では菌体濃度は 0.6 付近まで上昇したが生育速度は低くなり、pH 7.0 では最大菌体濃度は 0.4 程度に留まった。また、pH 5.0、pH 9.0 では生育は認められなかった。各初期 pH 条件下における硝酸性窒素濃度の経時変化を Fig. 7 に示す。pH 6.0、7.0、8.0 では、ほぼ同じ速度で硝酸が還元された。一方、生育がみられなかった pH 5.0、9.0 では硝酸濃度の減少も認められなかった。また、亜硝酸性窒素については pH 6.0 > pH 7.0 > pH 8.0 の順に残存濃度が高かった。

以上、昨年度の結果と合わせ、K2F 株の生育最適 pH は 7.0 前後と考えられる。これは初期 pH が 6.0 であっても、培養途中で pH が上昇し、対数増殖初期には pH が 7.0 になることが確認されたためである。すなわち、培養中の pH を 7.0 に一定制御できれば、良好な生育と硝酸還元能が得られるものと考えられる。

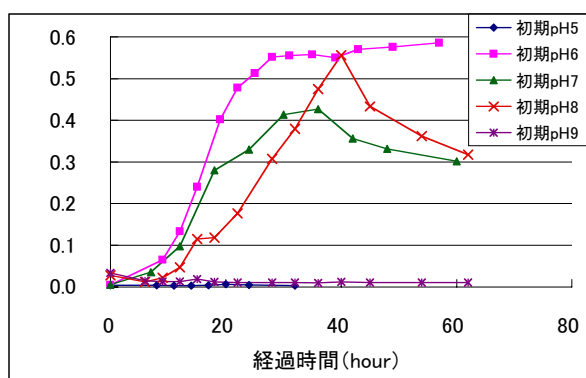


Fig.6 pH effect on K2F growth

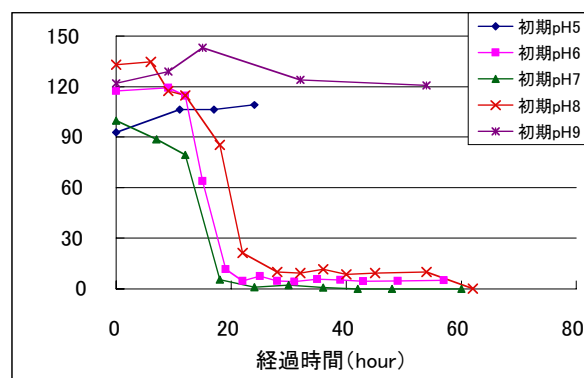


Fig.7 pH effect on nitrate reduction

#### (4) PHBを単一炭素源とする逐次回分培養実験におけるK2F株の硝酸還元能

PHB を単一炭素源とする逐次回分実験を行い、K2F 株による連続硝酸還元除去のための検討を行った。Fig. 8 に逐次回分実験における硝酸濃度および亜硝酸濃度の変化を示す。硝酸性窒素濃度を段階的に上昇させた結果、500 mg-N/L 程度の硝酸濃度では 3 日程度、800 mg-N/L の硝酸は 1 週間程度で還元脱窒されることが分かった。また、Fig. 9 から明らかのように、亜硝酸性窒素については極度に蓄積されることもなく還元除去されていることが分かった。以上、K2F 株の懸濁培養において、高濃度の硝酸還元が可能となったことから、今後は、連続硝酸還元除去を達成するとともに、微生物固定化担体等を用いて反応槽内に K2F 株を高濃度・安定に保持し、SRT を増加させることにより、高負荷対応型の硝酸性窒素除去方法について検討する予定である。

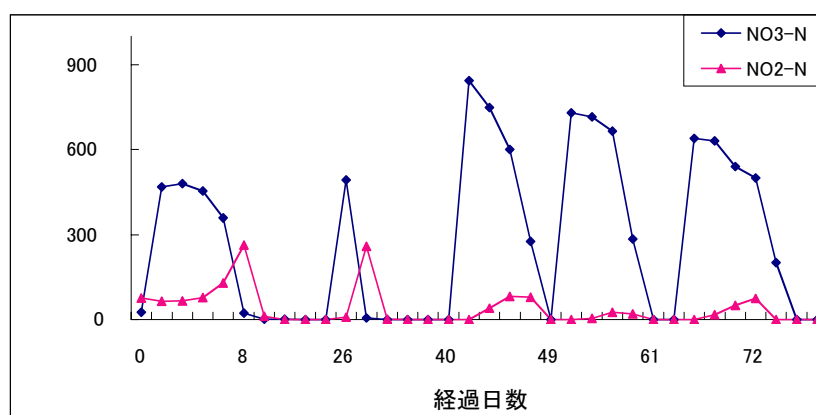


Fig. 8 Nitrate reduction by strain K2F in sequential batch culture with PHB-Giltay liquid medium

### 3. 成果の達成度

H17年度までの研究では生分解性プラスチック PHB を単一炭素源として生育可能でかつ硝酸を窒素ガスにまで還元除去可能な PHB 資化性脱窒細菌 K2F 株が分離された。しかし、K2F 株の PHB 資化性を確定するための実験が不十分であり、また細菌の同定についてもさらなる試験が必要とされた。また、生育条件についても不可解な点があったことなど、昨年度の研究結果を検証する必要がある。そこで本年度は、これらの課題を全て解決した上で、K2F 株の硝酸還元除去能を明らかにし、連続硝酸除去技術確立に向けた半連続実験（逐次回分培養実験）を実施して良好な結果が得られた。現在、K2F 株の単離と同定について、英文論文にまとめているところであり、本年度の成果は十分達成したものと考えられる。

### 4. H19 年度の目的・目標

本年度において、PHB 資化性脱窒細菌 K2F 株の単離・同定を検証し、その硝酸還元能力の確認、および半連続実験による硝酸還元除去技術の予備検討が良好であったことから、平成 19 年度は、これらの結果を踏まえて、PHB を炭素源とする連続硝酸還元処理方法の基礎を確立する。特に、微生物固定化担体などを活用することで、K2F 株を高濃度に集積し、さらに PHB を炭素源として供給できるリアクタシステムを構築して PHB を炭素源および電子供与体として用いる高速で低コストの連続硝酸性窒素除去技術の構築にむけて研究を進める。

## 5. 本研究に関連する H17 年度の研究費取得状況

### (1) H17 年度取得状況

- 1) 西田鉄工研究基金, 2005-2006 年, 110 万円, 生分解性プラスチック資化性脱窒細菌の集積・分離と硝酸性窒素除去への利用に関する研究

### (2) H19 年度申請状況

- 1) 学術振興会基盤研究 C, 2007-2009 年, 488 万円, 海洋性嫌気性アンモニア酸化細菌の集積と窒素除去技術への適用に関する研究
- 2) JST シーズ発掘試験研究, 2007 年, 195 万円, 負圧微細気泡と循環開水路型生物ろ床による新規畜産排水処理技術の開発
- 3) 財団法人 大林都市研究振興財団, 2007 年, 145 万円, 都市より排出される有機性廃棄物からの固定床一水素発酵生産技術の開発

## 6. H18 年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表

#### ① 国内誌 (和文)

- 1) 川越保徳, 福田淳, 高橋弘和, 藤本綾, 南直哉, 古川憲治, ポリビニルアルコール(PVA)ゲルビーズ流動床によるパラニトロフェノール含有廃水の処理, 水環境学会誌, 29 (9), 547-552 (2006)
- 2) 中尾雅治, 川越保徳, 日野なおえ, 岩佐知典, 藤本綾, 古川憲治, ポリビニルアルコール (PVA)ゲルビーズ流動床による嫌気性水素発酵の安定化, 水処理技術, vol. 48(1), 1-6 (2007)

#### ② 国際誌 (欧文)

- 1) Pham Khac Lieu, Hayato Homan, Atsuhiko Kurogi, Yasunori Kawagoshi, Takao Fujii, and Kenji Furukawa, Characterization of sludge from single-stage nitrogen removal using Anammox and partial nitritation (SNAP), Japanese Journal of Water Treatment Biology, 42 (2), 53-64 (June, 2006)
- 2) Robert Nerenberg, Yasunori Kawagoshi, Bruce E. Rittmann, Kinetics of a hydrogen-oxidizing, perchlorate-reducing bacterium, Water Research, 40 (17), 3290-3296 (2006)

## (2) 原著論文以外による発表

### ① 学会発表

(国際学会)

- 1) Yasunori Kawagoshi, Masaharu Nakao, Naoe Hino, Tomonori Iwasa, and Kenji Furukawa, Effect of nitrogen-load condition on hydrogen production and bacterial community in continuous anaerobic hydrogen fermentation process., 2006 WCMCA International Conference on Water Conservation and Management in Coastal Area, 502-508, (Nov. 14-16, 2006, Seosan, Korea)
- 2) Daisuke Yazaki, Ryoichi Kusumoto, Yasuhiro Nakamura Ichiro Teshiba, and Yasunori Kawagoshi, Fundamental study on application of negative-pressure-microbubble aerated open channel-filter bed to the piggery wastewater treatment., 2006 WCMCA International Conference on Water Conservation and Management in Coastal Area, 186-192 (Nov. 14-16, 2006, Seosan, Korea)
- 3) Masaharu Nakao, Yasunori Kawagoshi, Naoe Hino, Tomonori Iwasa, and Kenji Furukawa, Stable fermentative hydrogen production by polyvinyl alcohol (PVA) gel beads fluidized bed reactor., 495-501, (Nov. 14-16, 2006, Seosan, Korea)

(国内学会)

- 1) 川越保徳, 日野なおえ, 岩佐知典, 中尾雅治, 藤本綾, 古川憲治, 連続水素発酵における窒素-炭素バランスの水素生成能および微生物叢に及ぼす影響, 第17回廃棄物学会研究発表会, (北九州国際会議場, 2006年11月20日~11月22日), 第17回廃棄物学会研究発表会講演論文集, p657
- 2) 中尾雅治, 川越保徳, 日野なおえ, 岩佐知典, 藤本綾, 古川憲治, 付着固定化担体を用いた嫌気性水素発酵の安定化に関する基礎検討, 第17回廃棄物学会研究発表会, (北九州国際会議場, 2006年11月20日~11月22日), 第17回廃棄物学会研究発表会講演論文集, p660
- 3) 岩佐知典, 中尾雅治, 藤崎幸一郎, 川越保徳, 古川憲治, 固定床担体を用いた水素発酵の基礎的研究, 平成18年度日本水環境学会九州支部研究発表会講演要旨集, p. 5, (2007年3月9日, 九州産業大学)
- 4) 中井玄一郎, 向野幸子, 川越保徳, 古川憲治, PHBを単一炭素源として生育可能な脱窒細菌の単離とその諸性質について, p. 9-10 (2007年3月9日, 九

州産業大学)

- 5) 藤崎幸市郎, 中尾雅治, 岩佐知典, 川越保徳, 古川憲治, 固定床担体を用いた嫌気性水素発酵に関する基礎的研究, 平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, p913-914. (2007 年 3 月 10 日, 九州共立大学)
- 6) 沖幸憲, 長谷川仁, 藤本綾, 川越保徳, 古川憲治, 海産光合成水素生成細菌の集積と単離に関する研究, 平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, p. 915-916 (2007 年 3 月 10 日, 九州共立大学)
- 7) 岩佐知典, 中尾雅治, 藤崎幸一郎, 川越保徳, 古川憲治, 不織布担体を用いた固固定床による水素発酵の基礎的検討, 第 41 回日本水環境学会年会, 大阪産業大学(2007年3月15日~17日), 第41回日本水環境学会年会講演集, p639
- 8) 中井玄一郎, 向野幸子, 川越保徳, 古川憲治, PHB 資化性脱窒細菌の単離・同定とその生育条件について, 第 41 回日本水環境学会年会, 大阪産業大学(2007年3月15日~17日), 第41回日本水環境学会年会講演集, p625

## ② 特許状況

無し

## 平成18年度研究成果報告

研究課題名：様々なスケールの水循環プロセスの実態把握に関する研究

所属・氏名：大学院自然科学研究科・嶋田 純

### 1. 研究目的・目標

#### (1) H15年度～21年度における目的・目標

水循環の中で淡水の占める割合は僅か2.5%程度に過ぎないが、我々人間の生活に極めて密接に係わる重要な要素であり、その循環の実態把握を行う学問分野を水文学と言う。この地球上の水循環に係わるプロセスを物理的・化学的に究明するために、水の中に自然に存在する環境同位体を利用することでその流動の時空間特性を把握することを研究の目的としている。

湿潤温帯域にある九州地域の水循環プロセスに関して、この環境同位体手法と物理的な観測およびシミュレーション等を適宜併用することにより、降水・蒸発散・土壌浸透・地下水流動・海底地下水湧出等のプロセスの実態把握とその要因の解明、及びそれらに基づく地域の水循環・水賦存特性の評価を行うことで地域の水循環・水利用のあり方に関しての基礎的な情報提供を図ってゆくことを研究の目標としている。

#### (2) H18年度における目的・目標

地下水の滞留時間推定には、水に含まれる様々な物質をトレーサーとして用いることが有効である。その代表的なものの一つに、水素の放射性同位体である $^3\text{H}$ （トリチウム）を用いた方法がある。 $^3\text{H}$ は宇宙線の作用により大気上層中で恒常的に生産されるが、1950年代から60年代にかけて行われた大気圏内における核実験により、大気中に $^3\text{H}$ が大量に放出され、その結果としてとくに北半球の各地で降水の $^3\text{H}$ 濃度が急激に上昇し、実験終息とともに指数関数的に低下した。近年我が国では降水の $^3\text{H}$ 濃度が天然レベルにまで低下してきており、我が国のように降水量が多く、浅層地下水の滞留時間が数十年程度のオーダーを示すような地域においては、トリチウム法を用いた滞留時間の推定精度が懸念され出している。これに対し近年CFCs（chlorofluorocarbons, フロン類）を利用し地下水の滞留時間を推定する方法が提案され、欧米を中心に適用事例が積み重ねられつつある（Busenberg and Plummer, 1992; IAEA, 2006）。CFCsは人工的にのみ生産された非常に安定な物質であり、大気中のCFCs濃度は規制前までは



ば単調に増加しているなど、トレーサーとして非常に有利な特性を有していることから、とくに滞留時間の短い、浅層地下水の滞留時間推定に有効である。しかし国内においては、CFCs をトレーサーとして地下水の滞留時間推定に適用した例はなく、分析手法も確立されていないのが現状であり、本年度は、このCFCs法による地下水滞留時間推定法の開発を行うことをその目標とした。

## 2. H18年度の研究成果

CFCs は大気中に存在する気体であり、もし水サンプルが大気と接触すると、大気中のCFCsが水サンプルに混入する。その結果、大気中のCFCsに汚染された水サンプルを測定・分析することになり、結果に深刻なエラーをもたらす。またCFCsが含まれる、吸着するなどといった性質を有する器具が、水サンプルに接触すれば、これも結果に影響を及ぼす。よって採水・分析の各段階において、あらゆる汚染の可能性を排除した方法が求められる。

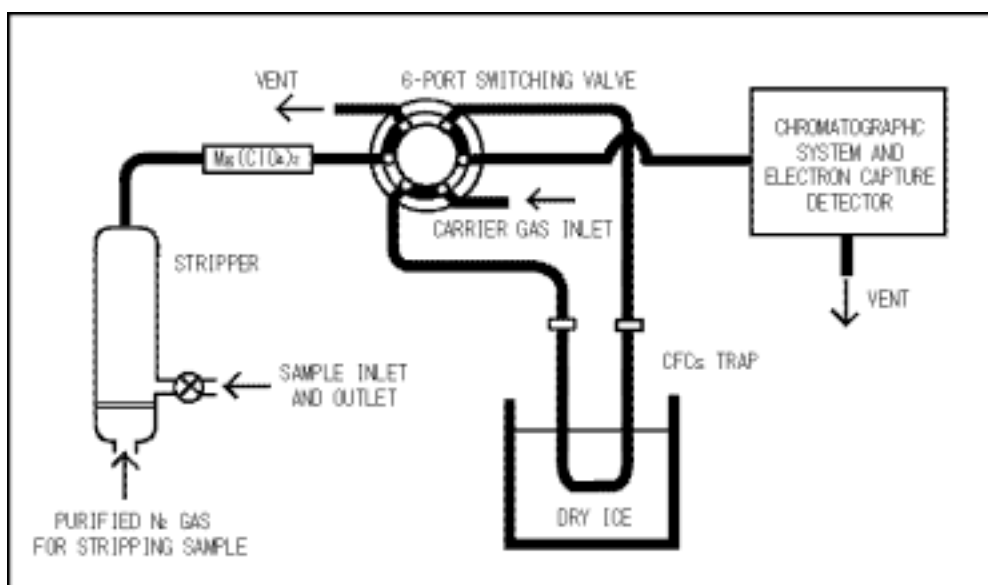


図 1. Thompson らによる地下水の CFCs 分析前処理ライン (Thompson et al., 1974)。

Thompson, et al. (1974) および Thompson and Hayes (1979)は、地下水中の CFC-11 濃度を測定するため、比較的シンプルな分析ラインを提案している(図 13)。この分析ラインは地下水サンプル中の CFC を高純度の N<sub>2</sub> でバブリングし、追出した溶存ガスを低温濃縮用のトラップで濃縮、その後トラップを加熱し CFC を ECD 付のガスクロマトグラフィーに導入し測定する。その後 Busenberg and Plummer (1992)は、 Bullister and Weiss (1988)の分析ラインをもとに、複数の CFCs 濃度の測定を可能とした分析ラインを作成し、主に米国を中心とした複数の地域における地下水の滞留時間推定に適用している。

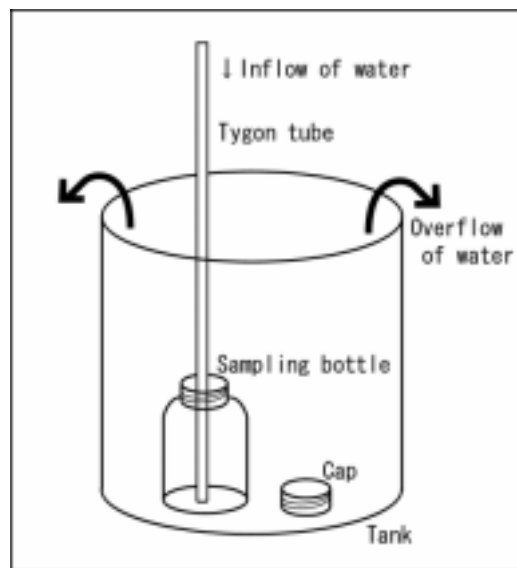


図 2. CFCs 分析用の水サンプリングシステムの概要。

地下水サンプルの採水は、密封用の中ブタが付属しているネジ口のガラス瓶容器を用いることが多いようである。USGS では、ステンレス容器内に入れた 125 mL ガラス瓶内に、揚水ポンプから導水された地下水を、ナイロンチューブ、銅管を通じ導入し、一定時間ステンレス容器ごと揚水した地下水でオーバーフローさせた後に水中で密封し、取り出してシールする方法が用いられている。この方法によれば、密封後地下水サンプルに溶存している空気が水温・水圧変化のために採水後ガラスボトル内で気泡として発生するが、基本的に外部からの空気の混入はほとんど発生しない。

筆者らは、USGS の方法を参考に、ステンレス容器を用いて実際の地下水および湧水の試験サンプリングを不知火水文物質循環試験流域（熊本県宇土郡不知火町）において実施した（図 2）。この試験流域ではトリチウムや安定同位体比を用いて、流域内の各地下水・湧水について滞留時間の検討が行われている（Inoue et al., 2005）。本研究では試験流域内において、湧水 3 ヶ所（S-2, S-6, S-15 地点）および海岸の観測井（SB-2D：深度 50 m, 自噴井）を選び、サンプルの採水を行った（図 3）。

サンプルの採水は、大気中の CFCs による汚染を防止するため、できる限り大気がサンプルに混合しないように配慮して行った。方法の概要は、次のように

なる。20 L のステンレスタンク中に 125 mL のサンプル採水用のガラス瓶、およびキャップを入れ、先端をガラス瓶の底まで挿入したチューブを用いて、湧水または地下水を直接導入した後、ガラス瓶およびステンレスタンクをオーバーフローさせ、ガラス瓶内の水が完全に新しく入れ替わったところでチューブを抜き、タンク内の水中で気泡が入らないようにキャップを閉じた。その後気泡がないこと確認し、キャップ部分をブチルテープおよびビニールテープでシーリングし、密閉した。なお、ガラス瓶内へのサンプルの導入は、可能な限り水頭差で導入し、不可能な地点のみ液送ポンプを用いて導入した（図2）。



図3. 試験サンプリングを実施した熊本県不知火町の試験流域概要。

表1. サンプルの諸元と分析結果。

Sample	Type	Environment	Concentration (pg/kg)			Dating by CFC	<sup>3</sup> H (TU)	EC (mS/m)
			CFC12	CFC11	CFC113			
S-6	Spring	Headwater	218.35	427.72	52.66	15	2.0	11.7
S-2	Spring	Midstream region	139.66	244.25	33.97	25	2.3	13.8
S-15	Spring	Coastline	27.22	60.83	-	> 50	2.2	19.2
SB-2D	Deep borehole	Coastline	23.85	29.78	-	> 50	0.1	19.2

採取したサンプルは、図4に示すラインによって地下水中に溶存しているCFCsを捕集し、ECD-ガスクロマトグラフ（島津製作所 Shimadzu GC-8AIE）に

より CFC-11, CFC-12, CFC-113 を測定した。結果を表 2 に示す。これによれば, SB-2D における CFC-11 は 15 pg/kg 程度ときわめて低く, 一方 S-2 のそれは 260 pg/kg を示した。この値を用い, 採水地下水サンプルの滞留時間を推定すると, 源流域の湧水において滞留時間 15 年, 中流域のそれは 25 年, 沿岸部において 50 年以上と推定される。

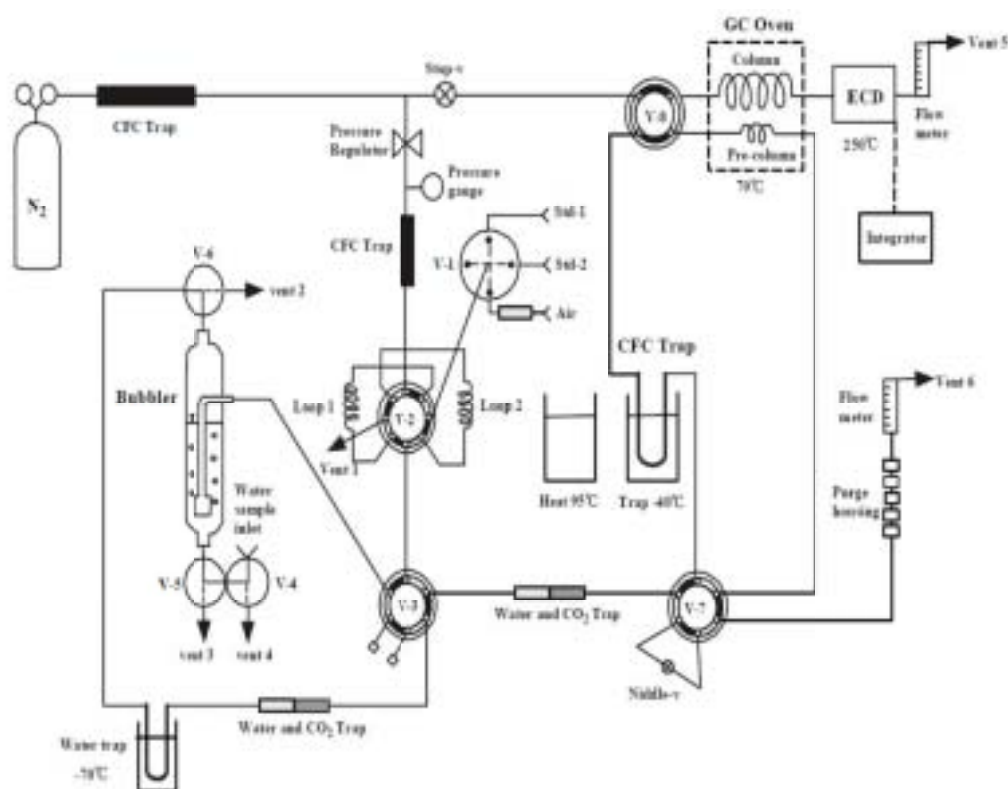


図 4. CFCs 分析用前処理ライン

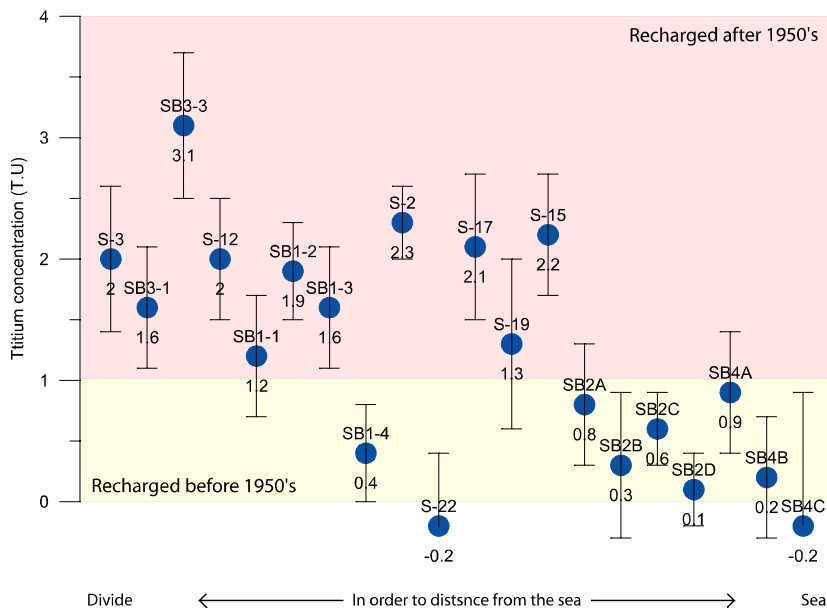


図5 不知火研究地域における地下水中のトリチウム濃度(Inoue, et al., 2005)

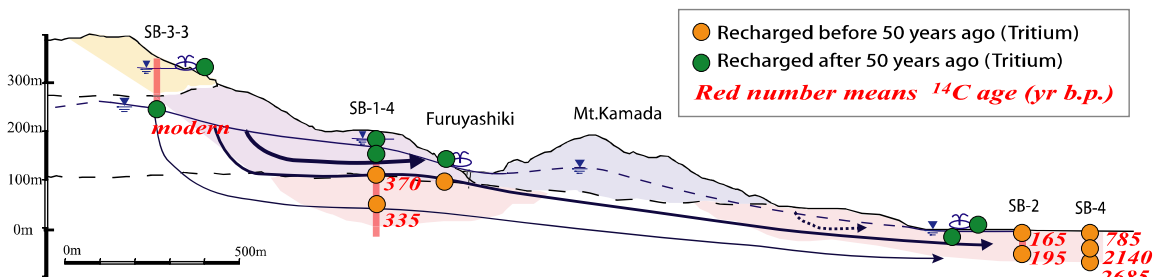


図6 トリチウム濃度及び炭素 14 濃度を基にした不知火研究地域地下水の年齢分布概念図 (Inoue, et al., 2005)

### 3. 成果の達成度

CFCs法に推定された地下水年代は、不知火研究流域においてこれまでに明らかにされている観測井を用いた地下水ポテンシャル解析の結果などと整合性がみられると共に、さらに図5や6に示されるようにトリチウムや炭素14を用いた既存の地下水年代分布特性研究では分解能の無かった50年以下の滞留時間解析がCFCs法によって可能であることが示された。また、炭素年代で1950年を示すSB-2Dの湧水において<sup>3</sup>H、CFCがほとんど検出されなかったことは、当

該地域では人為起源の最近の CFCs の混入の懸念が無いことを示すものであり、我が国において CFCs が地下水年代決定のトレーサーとして有効であることが裏づけられた。

#### 4. H19年度の目的・目標

H18年度の成果として、CFCs法による地下水年代測定システムが確立されたので、H19年度はこの手法を国内および海外の地下水に適応し、その測定事例を増やしてゆくことで、本手法の有効性と限界を見極めてゆく予定である。

#### 5. H18年度の研究費取得状況

##### ・科学研究費

科研費基盤 (B)(2) 平成 16-18 年度 廃棄物処分に関わる安全性検討のための沿岸地圏域地下水流動システムの探査技術開発. 徳永朋祥 (代表)、六川修一、嶋田 純、大久保泰邦、20000 千円

科研費 基盤研究(B)(海外学術調査) 平成17-19年度 東アジア沿岸域における地下水流出に伴う炭素・栄養塩類負荷量の評価. 谷口真人 (代表)、蒲生俊敬、徳永朋祥、宮岡邦任、張 勁、嶋田 純、小野寺真一 8900千円

科研費 基盤研究(C)平成17-19年度 マルチ・トレーサー手法による流域水・物質循環プロセスのモデル化に関する研究. 辻村真貴 (代表)、嶋田 純 3500 千円

科研費 基盤研究(A) 平成17-20年度 異常間隙水圧層の発生・上昇メカニズムと広域地下水流動、自然災害に及ぼす影響 田中和広 (代表)、宮田雄一郎、千木良雅弘、徳永朋祥、今岡照喜、中田英二、嶋田 純、金折裕司、石田 毅、馬原保典、38600 千円

##### ・その他の研究費

都城市受託研究費 2006年度、代表 500千円、『都城盆地の地下水流動・循環機構解析』

総合地球環境学研究所 2006年度共同研究、分担 40800千円、『都市の地下環境に残る人間活動の影響』

原子力環境整備促進・資金管理センター 地層処分重要基礎技術研究調査 2004-2006年度 15000千円 『堆積岩地域における塩淡境界に関する研究』 徳永朋祥 (代表)・嶋田 純 (分担)

資源・素材学会、深部地質環境調査解析技術体系化委員会 受託研究 『地下水の地球化学的調査に関する研究』、分担 850千円

戦略的基礎研究推進事業経費, 2001-2006年度, 『北東アジア植生変遷域の水循環と生物・大気圏の相互作用の解明』, 杉田倫明 (代表) ほか、分担, 255017千円  
核燃料サイクル機構先端基礎研究助成 平成17-19年度 塩素安定同位体比を用いた水理地質構造モデル評価技術の開発. 徳永朋祥 (代表)、嶋田 純、井尻裕二、小野誠、 9000千円

・ 委任経理金 2件 (1200千円)

## 6. H18年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表

#### ・ 国内誌 (和文)

- (1) 寺本雅子、嶋田 純、国丸貴紀 (2006) : コア間隙水中の安定同位体比をもとにした低透水性堆積岩盤における地下水挙動の兆候. 応用地質 47 (2), 68-76.
- (2) 笠谷貴史、後藤忠徳、佐藤 壮、嶋田 純 (2006) : 八代海干潟での VLF-MT 探査による湧水検出. 物理探査、59 (5)、497-504.
- (3) 末田智也、嶋田 純、大場和彦、丸山篤志、高野出恵 (2006) : 宇土半島小流域における冬季の局地気象特性. 九州の農業気象. 第II集. 15号、81-82.
- (4) 末田智也、大場和彦、嶋田 純、丸山篤志、関岡信一 (2006) : トウモロコシ群落における遮断雨量の評価. 九州の農業気象. 第II集. 15号、67-70.

#### ・ 国際誌 (欧文)

- (1) Taniguchi, M., T. Ishitobi, J. Shimada, and N. Takamoto (2006), Evaluations of spatial distribution of submarine groundwater discharge, /Geophys. Res. Lett., 33/, L06605, doi:10.1029/2005GL025288.
- (2) Maki Tsujimura, Yutaka Abe, Tadashi Tanaka, Jun Shimada, Satoru Higuchi, Tsutomu Yamanaka, Gombo Davaa, Dambaravjaa Oyunbaatar (2006): Stable isotopic and geochemical characteristics of groundwater in Kherlen River basin, a semi-arid region in eastern Mongolia, Jour. of Hydrology, Vol.333, No.1, 47-57.

## (2) 原著論文以外による発表

### ・その他

- (1) 嶋田 純(2006) : 熊本の水の恵み、日本火山学会公開講座テキスト、46-47.
- (2) 嶋田 純(2007) : 環境同位体を用いた地下水循環プロセスの研究. 細胞工学 Vol. 26, No. 1, 98-99.
- (3) 嶋田 純(2006) : 地下水の地球化学的調査に関する研究. 深部地質環境の調査・解析技術の体系化に関する研究(平成17年度)報告書. 〈社〉資源・素材学会. 269-301.
- (4) 嶋田 純(2006) : 山体基盤岩地下水流動の実態解明とその水資源的評価. 平成14-17年度科学研究費補助金研究成果報告書. P. 227

## (3) 学会発表

- (1) 宇土半島源流域における水循環解析：観測値再現性から見た地下水理構造の推定像. 橋詰、登坂、嶋田. 日本地下水学会平成18年度春季学術講演会論文集, No. 21
- (2) 比抵抗法を用いた山地源流域における地下水帯の貯留量変動特性の把握. 小野、嶋田、佐藤、佐藤. 日本地下水学会平成18年度春季学術講演会論文集, No. 22
- (3) CFC トレーサーを用いた地下水の滞留時間推定に関する基礎研究. (辻村、太田、浅井、嶋田、長谷川) 日本地下水学会平成18年度春季学術講演会論文集, No. 29
- (4) 自然電位法 (SP 法) を用いた広域地下水流動把握に関する研究. 地球惑星科学関合2006年大会2006年5月 (佐藤 壮・嶋田 純・後藤忠徳による共著)
- (5) 沿岸域における潮位変化に伴う海底地下水湧出量の変動特性. 地球惑星科学関合2006年合同大会2006年5月 (石飛智念・谷口真人・嶋田 純による共著)
- (6) 宇土半島の火成岩流域における実蒸発散量を基にした流域水収支の評価. 地球惑星科学関合2006年大会2006年5月 (末田智也・嶋田 純・大場和彦・高本尚彦による共著)
- (7) 封入空気が降雨流出に及ぼす影響. 地球惑星科学関合2006年合同大会2006年5月 (古谷 麻美・恩田 裕一・辻村 真貴・増渕 健・嶋田 純による共著)
- (8) タイ・バンコク周辺における地下水の物質輸送の変化 日本地下水学会



- 2006 年秋季講演会講演要旨. 2006 年 10 月 (小野寺、谷口、斉藤、嶋田による共著)
- (9) インドネシア・ジャカルタにおける地下水の水質特性 日本地下水学会 2006 年秋季講演会講演要旨. 2006 年 10 月 (沢野、小野寺、Fajar、嶋田、細野による共著)
- (10) 幌延地域における塩素同位体比を用いた塩水淡水挙動評価 日本地下水学会 2006 年秋季講演会講演要旨. 2006 年 10 月 (徳永、木村、井尻、本島、国丸、高本、嶋田、細野による共著)
- (11) 自然電位法を用いた山地源流域における地下水流動の把握 日本地下水学会 2006 年秋季講演会講演要旨. 2006 年 10 月 (佐藤、嶋田、後藤、登坂による共著)
- (12) 熊本県南部における広域地下水の水文化学特性に関する研究、日本水文科学会 2006 年度学術大会予稿集、2006 年 10 月 (野田、嶋田、松崎と共著)
- (13) 森林地域における降雨流出プロセスに寄与する樹幹流の定量的評価—降雨イベント中における林外雨、林内雨および樹幹流の化学成分の経時変化特性—、日本水文科学会 2006 年度学術大会予稿集、2006 年 10 月 (井川、嶋田、清水と共著)
- (14) 火山岩流域における山体基盤岩地下水流動の実態解明、日本水文科学会 2006 年度学術大会予稿集、2006 年 10 月 (嶋田他 15 名と共著)
- (15) 塩素濃度および塩素同位体比プロファイルを用いた沿岸物質挙動の定量的評価 日本応用地質学会平成 18 年度研究発表会要旨集 2006 年 11 月 (木村、徳永、嶋田、長谷による共著)
- (16) 筑後川扇状地における地下水流動状況 (予報) 日本応用地質学会平成 18 年度研究発表会要旨集 2006 年 11 月 (長谷川、高田、嶋田、下大迫による共著)
- (17) 都城盆地における土地利用・地形・地質構造と地下水流動 日本応用地質学会平成 18 年度研究発表会要旨集 2006 年 11 月 (三上、嶋田、軸園による共著)
- (18) 海底地下水湧出箇所 の 探 査 手 法 に つ い て 日 本 応 用 地 質 学 会 平 成 18 年 度 研 究 発 表 会 要 旨 集 2006 年 11 月 (高岡、後藤、嶋田による共著)
- (19) Paleo-hydrology information from the lake bottom deposit core and its pore water, Lake Kasumigaura, Japan. (Takamoto, Shimada, Tokunaga) H11A-1239, AGU fall meeting 2006.
- (20) The seasonal fluctuation of groundwater storage in the volcanic headwater region by using electrical resistivity tomography (Ono,

Shimada, Sato) H43E-0530, AGU fall meeting 2006.

- (21) Quantitative evaluation of stemflow flux during the rainfall-discharge process in a forested area. (Ikawa, Shimada, Shimizu) H43E-0531, AGU fall meeting 2006.
- (22) Basin wide Nitrate-Nitrogen pollution of groundwater, Miyakonojo, Japan, with the relation of the regional groundwater flow system. (Mikami, Shimada, Zikuzono) H41B-0390, AGU fall meeting 2006.
- (23) Diffusion-limited chloride migration revealed by stable chlorine isotope profile and dating of groundwater age at Yatsushiro bay, Kumamoto, Japan (T Tokunaga, Y Kimura, J Shimada, A Sano, T Hishiya) H41B-0386, AGU fall meeting 2006.
- (24) A multi-tracer and modeling study of groundwater in Kherlen River Basin, eastern Mongolia (M Tsujimura, S Higuchi, J Shimada, Y Abe, T Yamanaka, T Tanaka) H41E-0454, AGU fall meeting 2006.
- (25) 宇土半島小流域における実蒸発散量を基にした流域水収支に関する評価. 2006年度日本気象学会九州支部発表会講演要旨集, 第28号, 13-14.

(4) 特許状況 : なし

## 7. その他H17年度における特筆すべき活動

H17年度における活動として追加すべき項目として下記の招待講演等を行った。

- ・熊本地域の地下水—70万都市を支える地下水との共生—. 第5回熊本水道研究会. 2006年6月7日, 熊本大学工学部物質化学棟2階会議室.
- ・火山岩流域における広域地下水流動の実態解明に関する研究. 地圏科学技術研究平成18年度第1回研究部会依頼講演. エンジニアリング振興協会地下開発利用研究センター. 2006年7月6日, 東京霞山会館
- ・ Integrated Groundwater Resources Management in Western Aso Mountain Foot Groundwater Basin . *Jun Shimada ( Professor, Kumamoto University )* Workshop on Managing Groundwater Resources for Human Security in Changing Global Climate and Human Interception JICA Tokyo International Center (*Hatagaya*), Tokyo 22 August 2006

- Sustainable development of groundwater resources to support 700,000 residents' city water —Trans-boundary groundwater resource management in the case of Kumamoto area, Japan — International workshop on Water Cycle and Sustainable use of water resources. 16-18 Oct. 2006, Shijiazhuang, China. (Invited speaker)
- Irrigation caused groundwater drawdown beneath the North China Plain., 中国科学院地理研究所外国人研究者特別講演、2006年10月13日
- 70万都市を支える地下水との共生＝熊本地域の地下水－. 東京大学21世紀COEプロジェクト『都市持続再生学の創出』公開シンポジウム、『人が変える都市の地下水』講演資料、2007.02.21、85-98.

#### 8. H18 年度在籍する博士後期課程学生数（進学者、留学生、社会人の内訳）と19年度入学予定学生数（内訳）

H18年度：2名（内留学生1名）

H19年度：2名（進学生）

#### 9. H19年度外部資金申請状況

- 科研費基盤（A）平成19年度～平成22年度、広域地下水流動に伴う硝酸性窒素の脱窒過程の解明、嶋田 純（代表）他2名 50000千円
- 科研費基盤（A）平成19年度～平成22年度、人間活動による同位体変動を環境トレーサーとした広域地下水循環変動の解明、馬原保典（代表）、嶋田 純（分担）他4名 50000千円
- 平和中島財団2007（平成19）年度アジア地域重点学術研究助成、バングラディッシュ（ガンジス・ブラマプトラデルタ地域）における広域地下水流動の解明、2000千円、嶋田 純（代表）、小池克明、Ratin Kumar,
- 平和中島財団2007（平成19）年度国際学術共同研究助成、アフリカにおける水資源との共生と水環境負荷低減のための共同研究、9950千円、小池克明（代表）、嶋田 純（分担）、他19名

## 平成 18 年度研究成果報告（単年度研究成果）

研究課題名：「有明海・八代海の環境再生と防災との調和」

所属・氏名：沿岸域環境科学教育研究センター・滝川 清

### 1. 研究目的・目標

#### （1）H15 年度～21 年度における目的・目標

代表的な閉鎖的内湾であり、広大な干潟と大潮位差など独特の自然環境にある有明海・八代海では、近年の生物相の変化とその種の激減、赤潮の多発、水質・底質の悪化など、急激な環境悪化の悪循環（負のスパイラル）に陥っているものと懸念され、海域環境の回復と再生に関する科学的研究の実施とともに、その再生維持対策が緊急を要する国家的課題である。

また、この海域は台風・高潮等の常襲地帯でもあり、海象災害に対する安心・安全性確保のための対策が不可欠な地域でもあり、二律相反した“環境と防災”の調和に関する早急な学術的・技術的対応を、緊急かつ積極的に行わねばならない。

このような、閉鎖性の高い有明・八代海的环境は、気象・海象・地象の環境構成要素に生態系が加わり、さらに内陸からの人為的影響を大きく受ける複雑な因子に支配される環境系にある。従って、この海域における環境変動のメカニズムの解明に際しては、広範な分野からの学際的・総合的研究体制とともに、環境の再生維持にあたって、その方策の策定・実施・管理の上からも、省庁・行政の枠を超えた、産官学による総合的な推進体制が不可欠である。

本研究は、緊急性の高い地域環境の修復と維持に焦点を絞り、従来の個別的なプロセス研究から総体的・総合的な研究への機動的展開を可能とする学際研究開発のグランドデザインの作成を目指す。すなわち、環境悪化の原因とメカニズムが不明のまま疲弊状態にある有明・八代海をモデルとし、海域環境の複雑なメカニズムを物理的、化学的、生物的に多側面から研究し、環境変化の評価・予測システムの構築を行うとともに、海域環境の改善策や内陸からの人為的負荷の削減技術開発など、海域環境保全と維持方策についての現地実証実験・開発研究とともに、海象災害の評価・予測システムの構築を行い、環境と防災とが調和した環境保全の理想像を創出することを目的とする。これにより 21 世紀における持続可能な地域社会形成のための科学的展開を図る。

## (2) H18年度における目的・目標

17年度に採択された超大型研究プロジェクト：文部科学省の科学技術振興調整費「有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証実験」研究を中心に「有明海・八代海の再生」を目的とした研究展開を積極的に行うとともに、“環境”、“防災（減災）”、“環境と防災の調和”、“安心・安全で生き活きた地域社会づくり”、を目標として引き続き、積極的な研究展開、政策策定指導などを継続する。

海域環境の再生に関する現地実証実験・調査及び再生方策について、上記の文部科学省の科学技術振興調整費研究の研究とともに、共同研究の実施を行う。具体的には、海域環境調査船「海輝」による海域環境調査と「耕耘」による干潟改善効果についての国土交通省との共同研究の実施。「なぎさ線（押え盛砂工法）」創生による“防災と環境との調和した”新しい海岸保全事業開発についての農林水産省との共同研究の実施。熊本県土木部およびNPO法人との共同研究による「人工干潟（野鳥の池）創生」による環境変動のメカニズム調査、および熊本県環境政策課との共同による沿岸域環境実態調査及び海域環境再生策のマスタープラン作成に取り組む。また、京都大学防災研究所との共同研究等を通じて、複合型災害のハザードマップ作成に向けた研究を実施する。

## 2. H18年度の研究成果

わが国海域の環境・防災に関する学術研究の権威者として、40数余に及ぶ各省庁・県等の委員会の委員長・委員を務め、有明・八代海環境の保全・再生と防災に向けて行政への指導・提言を行い大いに社会に貢献中である。

環境問題では、特に有明・八代海再生のために環境省に設置された「有明・八代海総合調査評価委員会委員（再生法に基づく国の諮問委員会）」を通じて大いに技術指導を行うとともに、農林水産省、水産庁、国土交通省の有明・八代海再生のためのほとんどの委員会の委員長・委員として、技術指導・提言を行っている。また、熊本県においては、有明海・八代海再生のためのマスタープラン作成の委員会を設置し、委員長として先駆的な海域環境再生の方策を提言・取りまとめた。また、国土交通省や農林水産省などと共同研究をも数多く実施中で、農林水産省九州農政局玉名横島海岸では、高潮防災堤防の前面に環境保全策を施し、環境と防災の調和を目指した現地実証試験を行い大きな成果を挙げた。熊本新港では人工干潟の創成、なぎさ線の回復事業を国土交通省、熊本県およびNPOと共同で調査研究し、有明海・八代海再生に精力的に取り組んでいる。

防災問題に関しては、「熊本県高潮対策検討会（委員長）」で想定最大高潮を基準と

した新たな“減災”対策の基本指針を策定した。我国初の海岸災害の減災対策の理念を提言し、熊本県および国の高潮減災対策の基本方針として策定した。これを受けて「熊本県海岸保全基本計画検討会(委員長)」では防護・環境・利用の調和を目指した基本計画を策定した。さらに複合災害を想定したハザードマップ作成の共同研究を京都大学防災研究所とともに実施するとともに、熊本県に「熊本県河川・海岸減災対策プロジェクトチーム会議」を設置して、複合型災害を想定した減災政策の基本指針策定の直接指導等を精力的に行った。さらに「八代海北部沿岸都市地域連携創造会議」では、“災害につよく環境と調和した地域づくり”を提言・指導し、関連の3市1町での講演会等開催を通じて、市民による地域づくりの活動を展開している。

今この海域が直面する“環境と防災”の二律相反する問題を大きな課題として、積極的に取り組んでいる。また、「熊本県公共事業再評価監視委員会(委員長)」を平成16年度より勤め、地域の公共の利に資する政策のあり方等についても指導・提言している。

また、地域においては、文部科学省の熊本大学地域貢献特別支援事業の代表として事業を推進し、“地域社会の防災と環境の調和”、“生き活きて地域社会づくり”に多大の実績をあげている。また、「有明・八代海沿岸域環境研究会(H9～):主宰」,「NPO:みらい有明・不知火(H13.6～):理事長」,「熊本県建設コンサルタンツ協会:技術顧問」,その他、環境・建設・調査関連企業の数社の技術指導実施、また「干潟フェスタ」実行委員長など環境教育も実施中で、地域の環境・防災産業の活性化とともに、研究・教育のリーダーとして奮闘中である。

大学での教育・研究活動も非常に活発に行っており、特に、近年の競争的研究資金の獲得(5年以内)は、日本学術振興会の科学研究費基盤研究(A)の3課題を含む10課題(総額161,400千円)、その他の外部資金も多数獲得(約40件,40,000千円(5年間))し多大の研究実績がある。特に、17年度から超大型研究プロジェクトである文部科学省の科学技術振興調整費(平成17年度～21年度の5ヵ年間:約4億円)を獲得し、九州大学、佐賀大学と連携して有明海再生のための調査研究ならびに現地実証試験を実施中である。

### 3. 成果の達成度

有明・八代海の環境再生と防災にかかわる総合研究を推進するに当たって、学術研究はもとより、政策策定への直接指導・提言、地域社会作り等々、積極的に推進・展開を行い多大の実績と貢献を果たしている。

#### 4. 19年度の目的・目標

環境、防災（減災）、環境と防災の調和、安心・安全で生き生きした地域社会づくり、を目標として18年度に引き続き、積極的な研究展開、政策策定指導などを継続する。特に、17年度に採択された超大型研究プロジェクト（文部科学省の科学技術振興調整費「有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証実験」）研究を中心に「有明海・八代海の再生」をテーマに積極的な研究展開を行う。

#### 5. 18年度の研究費取得状況

##### ①日本学術振興科学研究費補助金

- 1) 滝川清（熊大代表）. 文部科学省科学技術振興調整費：重要課題解決型研究，「有明海生物生息環境の不俯瞰型再生と実証試験（18年度104,000千円）.

##### ②奨学寄付金

- 5件 3,639,168円（沿岸域環境科学教育研究センター・教授；滝川 清）

##### ③共同研究

- 1) 滝川清.（アジアプランニング㈱）平成8～継続中.420（千円）/年.「有明海域における自然環境の評価と保全に関する研究」.
- 2) 滝川清.（開成工業株式会社）.平成8～継続中.420（千円）/年.「陸水流入に伴う有明海域の物質流動とその制御」.

##### ④平成18年度申請状況

- 1) 滝川清（熊大代表）. 文部科学省科学技術振興調整費：重要課題解決型研究，「有明海生物生息環境の不俯瞰型再生と実証試験」（19年度121,720千円）.
- 2) 滝川清（代表）. 基盤研究（A）.平成19～22年度 49,989（千円）.「八代海の俯瞰型再生とLifeware論に基づく豊かな沿岸環境の創成」

#### 6. H18年度の研究発表、特許状況

##### (1)原著論文による発表（これまでの代表的論文10編以内と今年度の論文）

##### ①国内誌（和文）：今年度

- 1) 山下絵里子・滝川 清・森本剣太郎・増田龍哉・：「創生された熊本港人工潟湖干潟「野鳥の池」における造成後の環境変動特性に関する研究」，生態工学会年次大会，pp.38-41，（2006.6.10） 九大
- 2) 三迫陽介・滝川 清・森本剣太郎・増田龍哉・幸田明子・山下絵里子：「人

工潟湖干潟における環境変動メカニズム解明に関する研究” 土木学会海洋開発論文集, Vol. 22, pp. 223-228. (2006. 7. 12) 滋賀県

3) 森本剣太郎・滝川 清：“災害被災者の「防災・減災」意識調査とハザードマップ策定への提言”，土木学会海洋開発論文集, Vol. 22, pp. 205-210. (2006. 7. 12) 滋賀県

4) 森本剣太郎・滝川 清・古川恵太・増田龍哉・幸田亜紀・山下絵里子 (2006)：“人工潟湖干潟における生態系発達機構と物質収支に関する研究”，土木学会海岸工学論文集, 第 53 巻, pp. 1241-1245. (2006. 11. 17)

5) 増田龍哉・滝川 清・森本剣太郎・松本 安弘・大久保貴仁 (2006)：“有明海における干潟海域環境の回復・維持へ向けた対策工法の実証試験”，土木学会海岸工学論文集, 第 53 巻, pp. 1206-1210. (2006. 11. 17)

6) 秋元和實・滝川 清・西村啓介・平城兼寿・鳥井真之・園田吉弘：“有明海白川沖における過去 60 年間の環境変遷の特性”，土木学会海岸工学論文集, 第 53 巻, pp. 941-945. (2006. 11. 15)

7) 田中健路・滝川 清：“有明海干潟上における二酸化炭素フラックス観測”，土木学会海岸工学論文集, 第 53 巻, pp. 1136-1140. (2006. 11. 17)

8) 鈴木武・滝川清：“コンジョイント分析による有明海の環境改善に対する支払意思の推定”，土木学会環境システム研究論文発表会講演集, Vol. 34, pp85-90, 2006. 10

9) 滝川 清・森本剣太郎・松永卓：“熊本県における減災対策の取り組みとハザードマップ策定への提言” 学術誌「減災」第 2 号山海堂, pp110—115 (2007.3.10)

## ②これまでの論文 (代表的論文 (10 以内))

(1) 増田龍哉・滝川 清・森本剣太郎・松本 安弘・大久保貴仁 (2006)：“有明海における干潟海域環境の回復・維持へ向けた対策工法の実証試験”，土木学会海岸工学論文集, 第 53 巻, pp. 1206-1210. (2006.11.17)

(2) 滝川清・秋元和實・平城兼寿・田中正和・西村啓介・島崎英行・渡邊枢：“有明海熊本沖の水塊構造と表層堆積物分布特性”，海岸工学論文集, 土木学会, 第 52 巻, pp. 956-960. (2005.11.9)

(3) 秋元和實・滝川 清・西村啓介・平城兼寿・鳥井真之・園田吉弘：“有明海白川沖における過去 60 年間の環境変遷の特性”，土木学会海岸工学論文集, 第 53 巻, pp.941-945. (2006.11.15)

(4) 滝川清, 有働人志, 後藤雅之, 倉吉一盛, 田渕幹修：“熊本県における想定量大高潮に基づく高潮減災対策の策定”，海岸工学論文集, 土木学会,



第 51 卷, pp.1361-1365 (2004. 11)

- (5) 滝川清, 田中健治, 外村隆臣、西岡律恵, 青山千春：“有明海の過去 25 年間における海域環境の変動特性”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 50 卷, pp. 1001-1005 (2003. 11)
- (6) 滝川清, 田淵幹修：“有明海の潮汐変動特性と沿岸構造物の影響”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 49 卷, pp. 1061-1065 (2002. 10)
- (7) K. Takikawa：“Storm Surge Damage caused by Typhoon No. 9918 in the Area of the Shiranui Sea”, Civil Engineering, JSCE, July 2001, Vol. 39, pp. 42-49
- (8) 滝川清, 田淵幹修：“台風 9918 号による不知火海の高潮と波浪特性”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 47 卷 (1), 291-295 (2000. 11)
- (9) K. Takikawa, F. Yamada, K. Matumoto “Internal Characteristics and Numerical Analysis of Plunging Breaker on a Slope”, An International Journal for Coastal, H・O・E, COASTAL ENGINEERING, Vol. 31, pp. 143-161, 1997.
- (10) K. Takikawa, F. Yamada, K. Sato and H. Furuta：“Numerical Analysis of Finite Amplitude Motion of Waves and a Moored Floating Body under Severe Storm condition”, International Journal for Numerical Methods in FLUIDS, vol. 21-4, 295-310, 1995.

## (2)原著論文以外による発表 (今年度)

### ①著書

- 1) 委員長監修・滝川清国土交通省九州地方整備局・熊本港湾・空港整備事務所”平成 17 年度環境整備船「海輝」年次報告書—有明海・八代海の海域環境調査結果— (2006. 10)

### ②学協会誌

- 1) 滝川清：“有明海・八代海再生そして環境と防災との調和” (社) 日本技術士会・九州支部 CPD 研修会, 24p, (2006, 4, 22)
- 2) 滝川清：“八代海の環境特性と地域づくり”, 八代海北部沿岸都市地域連携創造会議宇城市講演会, 46p, (2006. 5, 20)
- 3) 滝川清：“豊饒の海、再び～有明海・八代海の環境再生、そして防災との調和”, 平成 18 年度くまもと県民カレッジくまもとの環境を救う 8 つの方法～最新エコプロジェクトが指す未来～, 41p, (2006. 6. 17) ,

- 4) 滝川清：“有明・八代海の再生そして環境と防災の調和” 熊本大学沿岸域環境科学教育研究センター市民公開講座「有明海・八代海を科学する」, 41p (2006. 10. 11)
- 5) 滝川清：“第2回有明海の再生へ向けた現地試験” 文部科学省科学技術振興調整費重要課題解決型研熊本新港：熊本新港親水緑地公園「干潟なぎさ線現地実証試験地：東干潟なぎさ線・北干潟なぎさ線・野鳥の池」（見学と記念植栽）玉名横島海岸：「押さえ盛砂試験地」見学究有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証試験, 15p, (200610, 21)
- 6) 滝川清：“文部科学技術振興調整費 重要課題解決型研究「有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証試験」にかかる第2回シンポジウム「有明海の再生に向けて～国・県・大学の試み～」 27p, (2006. 11. 6)
- 7) 滝川清：“豊饒の海、再び～有明海・八代海の環境再生に向けて” 平成18年度くまもと県民カレッジ主催講座環境コース（後期）講師, 41p , (2006. 11. 23.)
- 8) 滝川清：“有明海・八代海の環境再生、そして防災との調和” 第26回地域産学官学と技術士の合同セミナー, pp17-26 (2006. 11. 24)
- 9) 滝川清：“減災と環境再生～暮らしを守る、環境も守る～” 平成18年度くまもと県民カレッジ主催講座（後期）講師 くまもと県民交流館パレア, 41p, (2006. 12. 7) ,
- 10) 滝川清：“減災と環境再生～暮らしを守る、環境も守る～” 第5回熊本大学沿岸域環境科学教育研究センター講演会要旨集「有明・八代海の再生・維持への研究」 pp10-16, (2007. 1. 26)
- 11) 滝川清：“有明海・八代海再生のためのマスタープランとシステムづくり” 熊本・佐賀・長崎 3大学合同 第4回みらい有明・不知火シンポジウム「有明八代海の再生をめざして」特定非営利法人みらい有明・ pp14-23 (2007. 2. 17)
- 12) 滝川清：“台風9918とハリケーン・カトリーナによる高潮災害①八代海・有明海沿岸の復旧作業と対策” 社) 土木学会西部支部 18年度土木学会西部支部研究発表会特別セッションにおける講演 102ppt, (2007. 3. 10) 九州共立大学北九州
- 13) 滝川清：“有明海再生総合表委員会報告が示す有明海環境変化の要因～” 底質” 佐賀県・NPO 法人有明海再生機構シンポジウム「有明海再生への道筋はどこまで見えてきたか？」第一部「何が有明海環境の異変をもたらしたのか？」佐

賀市マリトピア, 99ppt, (2007. 3. 24)

14) 滝川清：“有明海八代海における干潟再生実験について”平成18年度阪南2区干潟創造実験報告会「干潟を創る」, 横須賀市, 61ppt, (2007. 3. 26), 国総研横須賀庁舎

15) 滝川清：日本水産学会水産環境保全委員会シンポジウム, 閉鎖性海域の水産環境保全—何が明らかとなったか、何をすべきか, “有明・八代海の環境再生へのマスタープラン：熊本県の取り組み”, 111ppt, (2007. 3. 27), 東京海洋大学

### (3) 学会発表等 (今年度)

#### ① 招待講演

- 1) 滝川清：“有明海・八代海再生そして環境と防災との調和” (社) 日本技術士会・九州支部 CPD 研修会, (社) 日本技術士会・九州支部 24p, (2006, 4, 22) 110名
- 2) 滝川清：“地域の防災と環境に関わるこれまでの研究成果”, 特定非営利法人みらい有明・不知火平成18年度シンポジウム, メルパルク熊本, p (2006. 5. 15) 60名
- 3) 滝川清：“八代海の環境特性と地域づくり”, 八代海北部沿岸都市地域連携創造会議宇城市講演会, 46p, (2006. 5, 20) 240名
- 4) 滝川清：“豊饒の海、再び～有明海・八代海の環境再生、そして防災との調和”, 平成18年度くまもと県民カレッジくまもとの環境を救う8つの方法～最新エコプロジェクトが指す未来～, 41p, (2006. 6. 17), 30名
- 5) 滝川清：“有明・八代海の再生そして環境と防災の調和” 熊本大学沿岸域環境科学教育研究センター市民公開講座「有明海・八代海を科学する」, 41p (2006. 10. 11) 36名
- 6) 滝川清：“有明海の再生へ向けた現地試験” 文部科学省科学技術振興調整費重要課題解決型研熊本新港：熊本新港親水緑地公園「干潟なぎさ線現地実証試験地：東干潟なぎさ線・北干潟なぎさ線・野鳥の池」(見学と記念植栽) 玉名横島海岸：「押さえ盛砂試験地」見学究有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証試験, 15p, (200610, 21) 66名
- 7) 滝川清：“文部科学技術振興調整費 重要課題解決型研究「有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証試験」にかかる第2回シンポジウム”、「有明海の再生に向けて～国・県・大学の試み～」27p, (2006. 11. 6) 276名

- 8) 滝川清：“豊饒の海、再び～有明海・八代海の環境再生に向けて”平成18年度くまもと県民カレッジ主催講座環境コース（後期）講師,41p , (2006.11.23.)
- 9) 滝川清：“有明海・八代海の環境再生、そして防災との調和”第26回地域産学官学と技術士の合同セミナー, (社)日本技術士会・九州支部 CPD 委員会 pp17-26 (2006.11.24)
- 10) 滝川清：“減災と環境再生～暮らしを守る、環境も守る～”,平成18年度くまもと県民カレッジ主催講座（後期）講師,くまもと県民交流館パレア, (2006.12.7) , 41p,30名,
- 11) 滝川清：“有明海の再生に向けた現地実証試験”第5回熊本大学沿岸域環境科学教育研究センター講演会要旨集「有明・八代海の再生・維持への研究」pp10-16, (2007.1.26) 80名
- 12) 滝川清：“有明海・八代海再生のためのマスタープランとシステムづくり”熊本・佐賀・長崎 3大学合同 第4回みらい有明・不知火シンポジウム「有明八代海の再生をめざして」,pp14-23 (2007.2.17)
- 13) 滝川清：“熊本大学ラジオ放送公開講座 RKK (熊本放送)「有明・八代海の再生” 12分×20回オーガナイズ (滝川清)：シリーズ1「有明・八代海の環境特性と環境悪化の要因・そして再生の方向性」 “第1回環境異変の捉え方その① 原因仮説” (2006.11.7)
- 14) 滝川清：“熊本大学ラジオ放送公開講座 RKK (熊本放送)「有明・八代海の再生” 12分×20回オーガナイズ (滝川清)：シリーズ1「有明・八代海の環境特性と環境悪化の要因・そして再生の方向性」 “第2回環境異変の捉え方その②悪化の要因分析” (200611.14)
- 15) 滝川清：“熊本大学ラジオ放送公開講座 RKK (熊本放送)「有明・八代海の再生” 12分×20回オーガナイズ (滝川清)：シリーズ2「再生にむけての取り組み・対策・提言」 “第11回 有明・八代海再生の為の基本的考え方” (2007.1.23)
- 16) 滝川清：“熊本大学ラジオ放送公開講座 RKK (熊本放送)「有明・八代海の再生” 12分×20回オーガナイズ (滝川清)：シリーズ2「再生にむけての取り組み・対策・提言」 “第19回放送 「なぎさ線回復」などによる現地実証実験” (2007.3.20)
- 17) 滝川清：“熊本大学ラジオ放送公開講座 RKK (熊本放送)「有明・八代海の再生”

12分×20回オーガナイズ（滝川清）：シリーズ2「再生にむけての取り組み・対策・提言」

“第20回放送 更なる課題：「環境再生ソシテ防災との調和を目指して”  
(2007.3.27)

- 18) 滝川清：“台風9918とハリケーン・カトリーナによる高潮災害①八代海・有明海沿岸の復旧作業と対策”社)土木学会西部支部18年度土木学会西部支部研究発表会特別セッションにおける講演,102ppt,(2007.3.10)九州共立大学北九州
- 19) 滝川清：“有明海再生総合表会員会報告が示す有明海環境変化の要因～”底質”佐賀県・NPO法人有明海再生機構シンポジウム「有明海再生への道筋はどこまで見えてきたか?第一部「何が有明海環境の異変をもたらしたのか?」佐賀市マリトピア,99ppt,(2007.3.24)
- 20) 滝川清：“有明海八代海における干潟再生実験について”平成18年度阪南2区干潟創造実験検討会,国土技術政策総合研究所、61ppt,(2007.3.26),国総研横須賀庁舎
- 21) 滝川清：“有明・八代海の環境再生へのマスタープラン:熊本県の取り組み”,日本水産学会水産環境保全委員会シンポジウム,閉鎖性海域の水産環境保全—何が明らかとなったか、何をすべきか,111ppt,(2007.3.27),東京海洋大学

## ②一般講演

- 1) 加藤沙織,滝川清,森本剣太郎,増田 龍哉：“塩生植物の植栽技術に関する基礎的研究”,平成18年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集,II-69(2007.3.10)
- 2) 三迫陽介,滝川清,森本剣太郎,増田 龍哉：“人工潟湖干潟における物質収支と水質浄化機能の評価”,平成18年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集,II-72(2007.3.10)
- 3) 金子ゆかり,滝川清,森本剣太郎,増田龍哉：“「防護」「環境」「利用」の調和を図る海岸道路護岸の基礎的研究”,平成18年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集,II-88(2007.3.10)
- 4) 鐘ヶ江潤也,滝川清,森本剣太郎,増田龍哉：“熊本港周辺海域における生物生息環境の定量評価手法に関する研究”,平成18年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集,VII-73(2007.3.10)

- 5) 大久保貴仁, 滝川清, 森本剣太郎, 増田龍哉, : “人工巣穴による底質改善に関する研究” :平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, VII-74 (2007. 3. 10)
- 6) 倉原義之介, 滝川清, 森本剣太郎, 増田 龍哉 : “人工潟湖干潟「野鳥の池」における生物変動予測を目的とした HSI モデルの作成” 平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, VII-75 (2007. 3. 10)
- 7) 前田恭子, 滝川清, 増田龍哉, 森本剣太郎, : “熊本港「東なぎさ線」における生態系構築機構に関する研究”, 平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, VII-82 (2007. 3. 10)

#### ・特許状況

- 1) 平成 7 年, 特願平 7-346713, 「アーチ式浮き防波堤」, 滝川清, 東洋建設株, 日本, ;特開平 9-158152
- 2) 平成 17 年, 特許願第 202395, 「海域底泥層の装置及びその方法」, 滝川清 他 3 名

#### 7. 平成 18 年度在籍の博士後期課程学生数

2 名 (社会人)

#### 8. 平成 19 年度入学予定の博士後期課程学生数

2 名 (社会人)

#### 9. 学会・研究会等の開催

- 1) 特定非営利法人：みらい有明・不知火平成 18 年度シンポジウム；「地域の防災と環境に関わるこれまでの研究成果」（滝川清理事長主催），メルパルク熊本 2006.5.15
- 2) 第 7 回干潟フェスタ “干潟で遊ぼう！わくわく探検隊”，（滝川清教授実行委員長開催），参加者 950 人，2006.5.27（土），熊本港 親水緑地広場
- 3) 熊本大学ラジオ放送公開講座 RKK（熊本放送）「有明・八代海の再生」，シリーズ 1 「有明・八代海の環境特性と環境悪化の要因・そして再生の方向性」，シリーズ 2 「再生にむけての取り組み・対策・提言」，（滝川清教授オーガナイズ），2006.11.7～2007.3.27，全 20 回放送
- 4) 文部科学省科学技術振興調整費 重要課題解決型研究「有明海の再生へ向け

た現地試験」第2回見学会、滝川清教授主催，平成18年10月21日（土）12：30～18：30，熊本新港：熊本新港親水緑地公園「干潟なぎさ線現地実証試験地：東干潟なぎさ線・北干潟なぎさ線・野鳥の池」（見学と記念植栽）玉名横島海岸：「押さえ盛砂試験地」，見学者66名，資料15p.

- 5) 文部科学技術振興調整費 重要課題解決型研究「有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証試験」第2回シンポジウム「有明海の再生に向けて～国・県・大学の試み～」熊本大学の取り組み：その2「有明海・八代海の再生に向けた実証試験」，滝川清教授主催，熊本大学工学部百周年記念館，(2006.11.6)，参加者276名，資料27p.
- 6) 熊本・佐賀・長崎3大学合同：第4回みらい有明・不知火シンポジウム，「有明八代海の再生をめざして」，滝川清理事長主催，佐賀大学理工学部6号館1F，(2007.2.17)，参加者60名

## 9. その他特記事項

### (1) 学会賞・資格等

- 1) 滝川清（沿岸域環境科学教育研究センター・教授）：社団法人土木学会 特別上級技術者資格「防災」取得（2006.4.1）
- 2) 滝川清（沿岸域環境科学教育研究センター・教授）：社団法人土木学会 フェロー資格取得（2004.11.16）

## 平成 18 年度研究成果報告

研究課題名: 水域モニタリングのための環境データの数理解析と電磁波を用いた計測

所属・氏名: 大学院自然科学研究科 複合新領域科学専攻生命環境科学講座・小池克明

### 1. 研究目的・目標

#### (1) H15 年度～21 年度における目的・目標

水源から有明海までの流域圏における水理構造の全体像を解明するとともに、水域環境を広域的にモニタリングし、データの数理解析によって環境の時間的・空間的变化を詳細に明らかにすることで、水域環境に影響を及ぼす要因を特定する。この目的のために、電磁波を用いた計測技術であるリモートセンシングと地磁気－地電流法、および時空間領域でのデータの相関構造を考慮できる地球統計学を適用する。本研究は次の 3 つの内容から構成される。

- ① リモートセンシングによる広域水域環境の定量化法の確立
- ② 水域環境データの時空間分布のモデリング法の確立
- ③ 地磁気－地電流法による浅部から深部に至る水理構造の解析法の確立

#### (2) H18 年度の目的・目標

##### ① 衛星リモートセンシング

- ・海面温度以外に海水や河川水の混濁度、植物プランクトン量という代表的な環境因子に注目し、その時空間分布を LANDSAT 画像や Terra/ASTER 画像における複数のバンドデータの多変量解析によって抽出できる手法を考案する。
- ・干潟試料の反射スペクトル測定から得られた代表的な 3 つのパターンに対する鉱物組成を明らかにする。

##### ② 時空間数理モデル

- ・水温や栄養塩濃度に塩分濃度などの他の水質環境データも加え、3 次元的な環境データの時空間モデル作成、および環境変化因子の抽出を進展させる。

##### ③ 地磁気－地電流計測

- ・MT 法により、熊本平野周辺の地下構造推定を進め、涵養域から流出域までの地下水系の全体像を明らかにする。さらに、海底電気探査の測線を追加し、有明海底に湧水する地下水の経路を比抵抗分布から詳細に推定する。



## 2. H18 年度の研究成果

### 2.1. リモートセンシングによる干潟堆積物の地質環境情報の抽出

平成 17 年度に引き続き、干潟の地質環境の抽出にリモートセンシングを適用した。干潟から採取した多数のサンプルに対して反射スペクトル測定、粒度測定、鉱物分析を行い、これらの関係を衛星画像解析に応用し、干潟堆積物の分類を行うことを目的とした。そのために、白川河口の右岸側・左岸側、および緑川河口左岸側の御輿来海岸の 3 地区に注目し (図 1)、海岸線から沖に向かって 50~200 m 間隔で 5~8 地点から採取された計 166 個のサンプルを測定に用いた。本年度は新規の分光反射計によって、可視域から短波長赤外域まで連続的に分光率が測定できるようになった。



図 1 有明海における干潟サンプルの採取地区

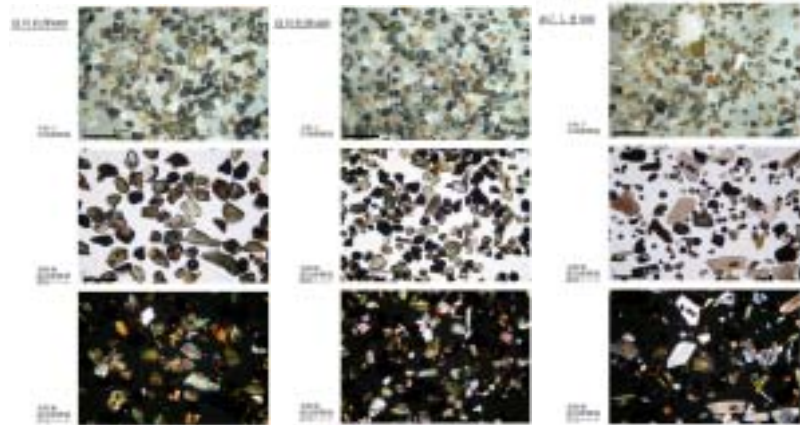


図 2 試料中の重鉱物粒子

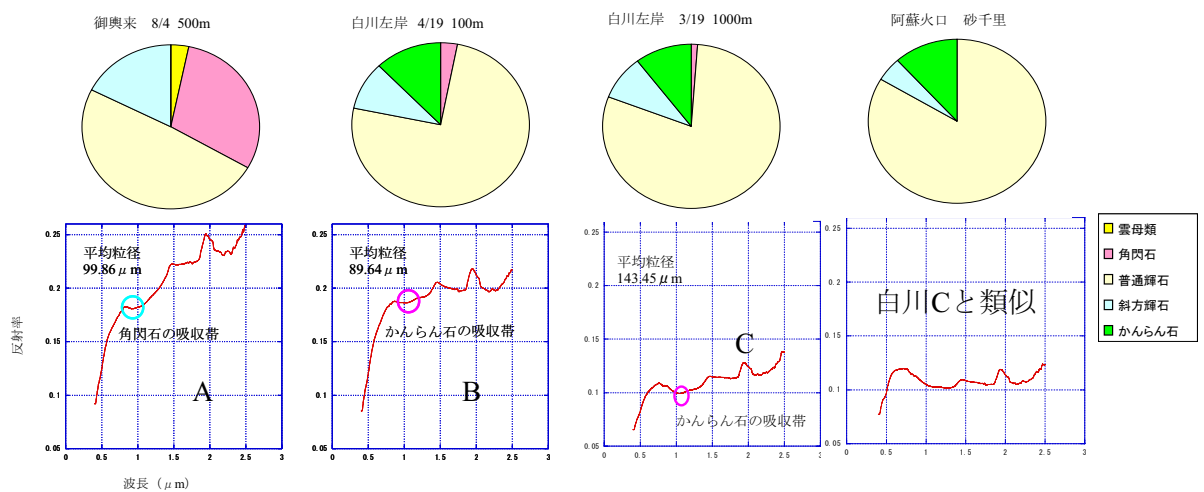
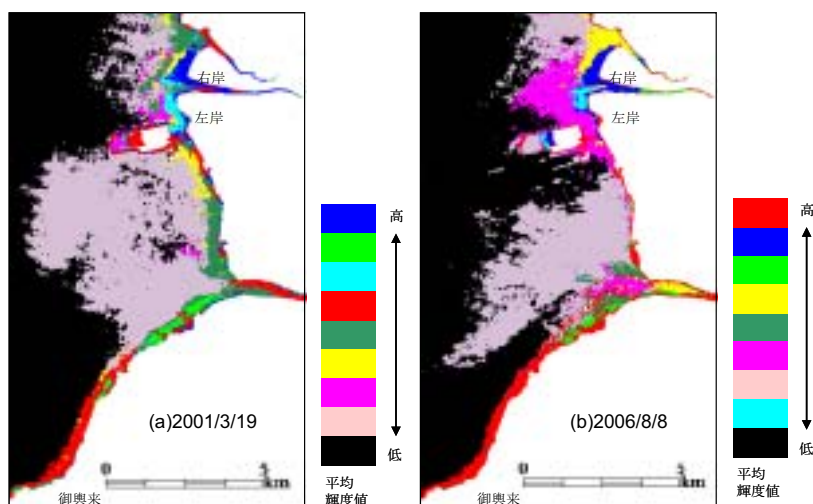


図 3 代表的な反射スペクトルパターンと重鉱物の含有率

多くのサンプルに共通して 0.74, 1.145, 2.215  $\mu\text{m}$  付近に反射率の吸収帯が存在し、スペクトルパターンに基づくと、測定結果は 3 つのタイプに大別できることがわかった。いずれも 1  $\mu\text{m}$  以下の可視・近赤外域に極大値 (MR1 とおく) を有し、1.145  $\mu\text{m}$  で極小となり、2~2.5  $\mu\text{m}$  の短波長赤外域に 2 つめの極大値 (MR2) をとる。A・B タイプでは MR2 の方が大きい、B タイプは可視域での反射率の増加が特に大きいという特徴がある。C タイプでは MR1 と MR2 に大差はない。御輿来、白川河口サンプルはそれぞれ A タイプ、C タイプの割合が多く、干潟堆積物の鉱物組成や物性の相違が推察できる。そこで、64~250  $\mu\text{m}$  の粒径範囲のみを用いて重鉱物分析を行った (図 2)。主要鉱物の含有率と反射スペクトルとの関係を図 3 に表す。A タイプは C に比べて角閃石と斜方輝石の割合が多いことがわかった。一方、C タイプでは普通輝石と橄欖石の割合が多い。白川・緑川の水源地周辺の地質を考慮した結果、白川系列は阿蘇山からの溶岩や阿蘇溶結凝灰岩 (図 3)、御輿来系列は変成岩が干潟堆積物の原岩である可能性が高いことが明らかになった。

次に、衛星画像解析として空間分解能が高い ASTER データに注目し、潮位が低い 2001 年 3 月 19 日と 2006 年 8 月 8 日の 2 シーンを選んだ。前処理として、DOS 法によって大気効果を軽減し、画像データを反射率に変換した。これから教師付き最尤法を用いて画像を分類したが、地域的な特徴は得られなかった。そこで、海域での平均スペクトルを各地域の平均スペクトルから差し引いたところ、分光反射率測定結果と調和したスペクトルが得られ、白川右岸、左岸、緑川河口、御輿来にそれぞれ異なったグループが現れた (図 4)。よって、本解析法は、堆積物の地質性状の相違に基づいて領域を区分するのに有効であることが確かめられた。



第 4 図 (a) 2001 年 3 月 19 日と (b) 2006 年 8 月 8 日の ASTER データに対する分類結果

## 2.2. 数理モデル

### 1. スケール則を考慮した空間分布モデリング

環境に関連する因子の空間分布と経年変化に関する特徴の抽出のために、平成16・17年度で多変量一時空間地球統計学を定式化し、有明海の43浅海定線調査地点でのデータに適用できた。本年度は、極限られた範囲の測定データから、様々な大きさの領域における地質材料の透水性に関する構造を推定することを目的とした。そのための重要なスケール則を見出し、推定に適した手法を特定した。これらを多孔質材料の空隙分布解析に応用し、空隙分布から透水性を特徴付けた。

まず、データ間隔が疎から密な状態の空間分布を推定するという空間分解能向上のアップスケールリングの問題を設定し、地球統計学での空間分布推定法とシミュレーション法、およびニューラルネットワークに基づく2種類の手法を比較した。その結果、いずれもサンプルデータのみを用いる限りは推定精度は不十分であり、データ値や空間的相関構造に関してサンプルデータの範囲を超える情報を与えることが不可欠である。これらをヒストグラムとセミバリオグラムのスケール則から与え、セミバリオグラムの適合性を基準とした焼き鈍し法を用いることの有効性が確かめられた。

次に、空隙を球で近似できる多孔質材料を対象とした場合、領域の大きさと空隙の最大半径との関係、最大半径とセミバリオグラムとの関係、および空隙の積算確率分布を定量化し、これと焼き鈍し法を組み合わせれば試料サイズを大きく超える領域においても空隙分布が妥当にシミュレーションできることが明らかになった。6つの領域の大きさに対するシミュレーション結果に基づき、空隙の連結距離の頻度と最大連結距離が、多孔質材料の透水係数の寸法効果に対する主な支配要因であること、および空隙率に伴う透水係数の急激な増加は、連結した空隙の体積の増大に起因することが考察できた。

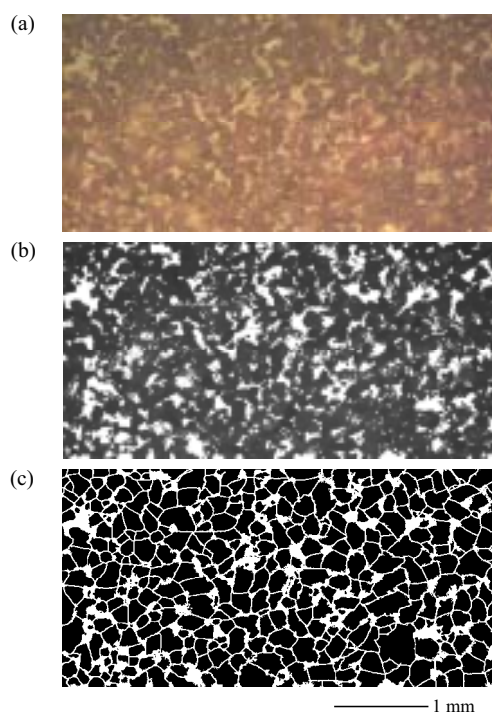


図5 ベレア砂岩サンプルの(a)顕微鏡画像、(b)2値化画像、(c)鉱物粒子への分割

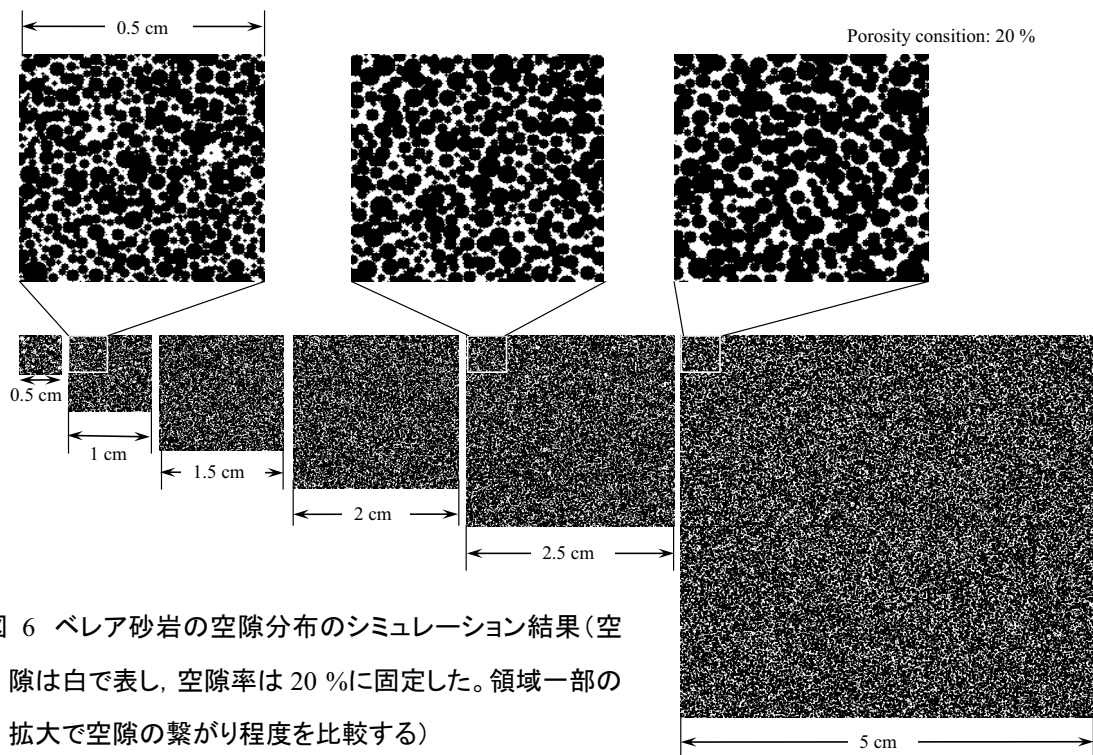


図 6 ベレア砂岩の空隙分布のシミュレーション結果(空隙は白で表し、空隙率は 20 %に固定した。領域一部の拡大で空隙の繋がり程度を比較する)

以上の検討に基づき、代表的な多孔質岩石であるベレア砂岩に対して、鉱物粒子の形状を球に置き換えて空隙分布シミュレーション法を適用した。図 5 に示す  $11.5 \text{ mm}^2$  という限られた範囲の岩石試料画像データを用いたところ、透水試験で用いられる試料の大きさ程度までの領域における空隙分布がシミュレーションできるようになった。その結果は図 6 のようである。空隙率は 20 % と固定している。領域の一部の拡大図からわかるように、領域の増大につれて空隙の連結が明瞭になり、水みちとなり得るチャンネルの数と長さが急増し、連結空隙の平均体積と分散も増加する傾向が明らかになった。これは寸法効果による透水係数の増加率や透水係数の不均質性を見積もるのに役立つ。

## II. 岩石亀裂分布の地球統計学的シミュレーション

未固結の地盤中の地下水流れは、ダルシー則に基づく多孔質媒体流れで一般に近似できる。一方、硬質の岩石中では亀裂分布が地下水流れ形態を支配するので、亀裂分布を正確に推定できる手法は不可欠である。これまで多くの亀裂分布シミュレーション法が提案されてきたが、亀裂の走向・傾斜という方位要素は統計分布に従ってランダムに与えられており、方位データがシミュレーションでは考慮されていない。これに地球統計学の応用を試みた。石油地下備蓄

基地での貯留槽と坑道の展開図に記載された亀裂のスケッチを読み取って亀裂データとしたが、走向・傾斜を判読できた亀裂のみを解析に用いた

(図 7)。総数は 1,843 本である。基本的に貯留槽は天盤，坑道は底盤のスケッチ亀裂を対象とし，側壁のスケッチも一部加えた。3次元亀裂分布シミュレーションの対象は坑道を含む範囲に限定し，水平方向に東西 700 m，南北 600 m，および深度方向に 100 m (地表面から深さ 100 m まで) とした。

まず，正規分布に変換された亀裂密度のセミバリオグラムを求め，約 1 km 四方の解析領域での密度分布を sequential Gaussian simulation により推定する。密度分布に基づき，亀裂の中心点をランダムに与える。次に，亀裂の走向を EW, NW, NS, NE の 4 方向に大別し，

各範囲に 0, 1 のインディケータを与えた。これを亀裂データの位置におく。このようなデータに主成分分析を適用し，第 1～第 3 主成分の値のみのセミバリオグラムを求めた。各中心点に対し，主成分値を ordinary kriging より補間する。これを主成分変換前の座標系に戻し，最も値が高い方位の範囲を選ぶ。さらに，

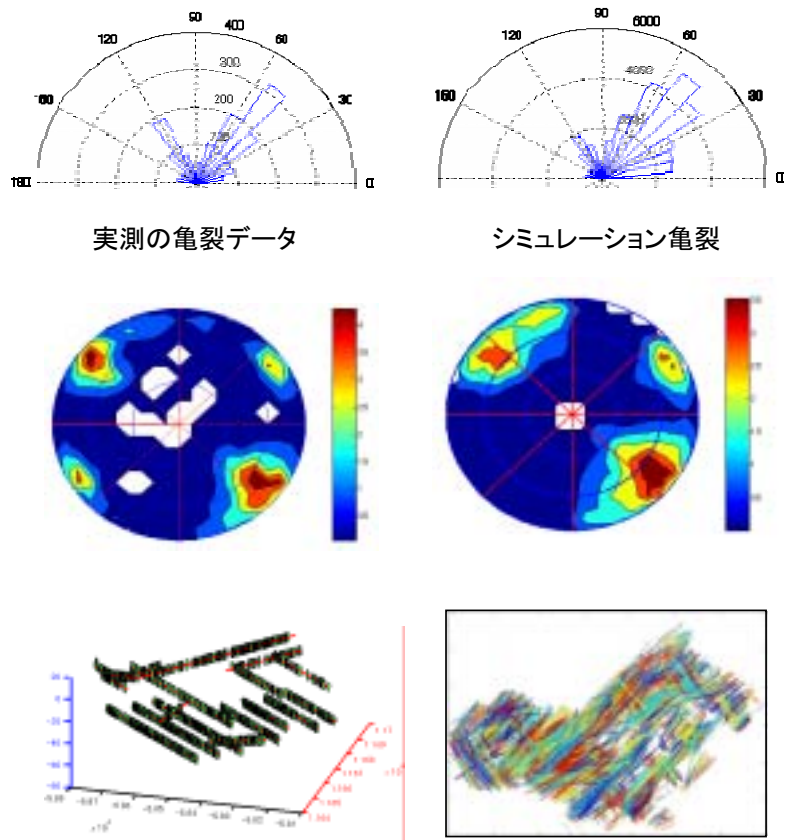


図 7 実測データの亀裂位置・方位分布とシミュレーション結果との比較

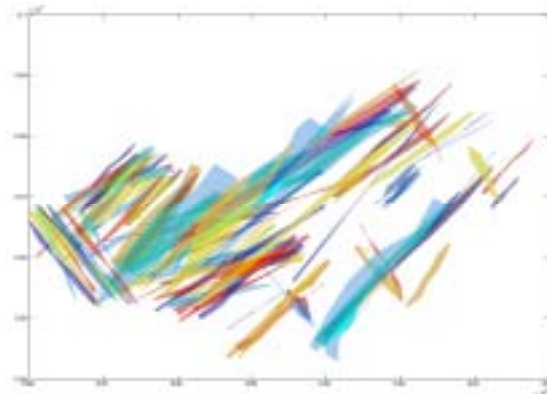


図 8 20 個以上連結した亀裂の分布

この範囲における亀裂走向角の積算確率分布とモンテカルロ法により、注目する中心点での亀裂の走向を与える。シミュレートされた 2 つの亀裂面の走向・傾斜の相違、および一方の始点と他方の終点との距離が許容範囲内であれば連結させる。この操作を全亀裂に対して行い、連結を繰り返す。

亀裂分布シミュレーション結果と方位分布を図 7 に示す。方位分布は走向の頻度分布、および亀裂面の極の密度分布（シュミットネット下半球投影）で表している。また、多くの亀裂面が重なり合っており、識別が困難であるので、各亀裂面にランダムに色を与えた。真上からの投影図であるので、直線に見える亀裂ほど傾斜は  $90^\circ$  に近い。同図で実測データの亀裂位置・方位分布と比較する。方位は全亀裂、亀裂分布は 4 つ以上の亀裂面を表している。方位分布の比較より、シミュレーション結果は実測データと良く対応していることがわかる。特に北東走向での卓越方位と頻度の傾向（北側傾斜の方が南側傾斜よりも多い）がほぼ再現できている。また、貯留槽・坑道の配置からわかるように、主に北西の観測方向によって現れにくい北西走向の連続した亀裂の位置は、北東方向の坑道の位置と強くは関連していない。ここに地球統計学を応用したシミュレーション法の妥当性が確かめられる。

次に連続性の良い亀裂に限定するために、20 個以上の連結亀裂を表したのが図 8 である。地質調査によって推定された破碎帯の分布と比較すると、連続性の良い亀裂は破碎帯の分布に対応することがわかった。最も卓越する北東走向の亀裂の傾斜は急だけでなく、傾斜角が緩くて連続性の良い亀裂も領域南部と北部で見られる。深度方向の亀裂面の連続性の程度も、この図から把握できる。

さらに、シミュレーション亀裂から透水テンソルを求めたところ、主軸の方位は亀裂の卓越方位と調和した。また、推定透水係数は  $10^{-5}$  cm/s のオーダーであり、実測値とオーダーが同じであることが明らかになった。

## 2.3. 物理探査

### I. 地磁気—地電流法による日奈久断層の深部比抵抗モデリング

阿蘇外輪山西麓や九州山地で涵養された地下水は、熊本平野・八代平野に向けて流れるが、布田川断層や日奈久断層が深部地下水の流動形態に影響を及ぼしていることも考えられる。よって、これらの断層の深部地質構造を明らかにすることは、地下水系の全体像の解明において重要である。この観点から、平成 14～17 年度にかけて阿蘇外輪山西麓から有明海沿岸部まで、および八代平野を対象範囲として MT 探査を実施し、布田川断層と熊本平野の深度 10 km まで

の比抵抗分布を明らかにした。その結果、1 km 位浅に 2 系統の地下水流れが推定でき、これは地表面近くでの地下水系と同じ傾向であることが明らかになった。また、標高-2000~-4000 m に深層地下水系が存在し、布田川断層の延長部で大きく変化する特徴が見出された。すなわち、深層地下水系に及ぼす断層の影響が明らかにできた。本年度は、日奈久断層に対する測定データを再解析し、比抵抗構造から断層周辺の地質分布、断層破碎帯の位置や形状、水平・深度方向の連続性を推定した。

MT 探査では、日奈久断層に直交する 3 本の測線を北側から約 18 km, 12 km 間隔で設け、順に hng-1, -2, -3 と称する。MT 法の測定はこれまでと同様であり、Phoenix 社製の MTU-5 と MTU-2E を使用した。MTU-5 は互いに直交する水平電場 2 成分と水平磁場 2 成分、および垂直磁場 1 成分の計 5 成分を測定し、MTU-2E は水平電場 2 成分のみを測定する機器である。測定は比較的ノイズが少ない夜間に行い、GPS で装置を同期させながら、hng-1 で 15 時間（18 時～翌朝 9 時）、hng-2 と hng-3 で 16 時間（17 時～翌朝 9 時）かけて、各成分の時系列データを取得した。1 つの測点におけるデータ取得は 3 日間を基本とし、S/N 比の高いデータが得られるまで最長 9 日間継続した。

測定データのインバージョン解析によって得られた 2 次元比抵抗分布は図 9 のようである。深度とともに比抵抗値は指数関数的に増加する傾向にあるので、分布の特徴が明瞭になるように常用対数で表している。hng-1, 2 の比抵抗分布から、日奈久断層は北部と中部ではほぼ垂直方向の比抵抗境界が現れ、ダメージゾーンを示唆する低比抵抗帯を伴っていないことがわかる。一方、臼杵―八代構造線が交差する hng-3 の南部では低比抵抗帯が存在し、これら 2 つの断層の重なりで顕著なダメージゾーンが形成されたと考えられる。

図では、この比抵抗分布と九州大学地震火山研究センターによる 1995 年 6 月～2005 年 1 月までの震源分布とを重ね合わせている。hng-1 からは、日奈久断層に対応することが推定できた比抵抗境界に沿って、標高-6000 m 以深に震源が集中していることが明らかである。加えて、震源は 1 つの面に沿うように分布し、その方向は断層の走向と調和的である。したがって、断層活動がこれらの地震を生じさせたと考えられる。hng-2 では震源数が少なく、分布に断層との関連性が見えない。さらに、震源と hng-3 の比抵抗分布からは、大部分の震源が低比抵抗のダメージゾーン上ではなく、高比抵抗帯である断層西側の花崗岩類の推定分布域に存在することがわかる。ここでも震源分布と断層との関連性は見出せない。

特に低い比抵抗が幅広く分布する布田川断層と比べると、日奈久断層の微小地震数は多く、比抵抗は全体的に高い。これから日奈久断層とその周辺の地質物性は脆性的であり、歪エネルギーを蓄積しやすいので、脆性破壊が地震として観測されていると考えられる。布田川-日奈久断層帯は地形的には連続した同一断層系のように見えるがにもかかわらず、破碎構造、力学的物性、応力環境は大きく異なることが明らかになった。

さらに、比抵抗分布に基づく深度 10 km までの日奈久断層周辺の地質は、断層西側の地表下浅部において北部は御船層群・中部～南部は肥後変成岩が分布し、その下位には南部にかけて花崗岩類が広く潜在していると考えられる。一方、断層東側では北部の浅部を構成するのは御船層群であり、その下位に水越層・間の谷変成岩、基盤に秩父累帯が分布し、中部～南部は表層地質との関連から花崗岩類や秩父累帯が浅部に分布すると推定しても妥当である。

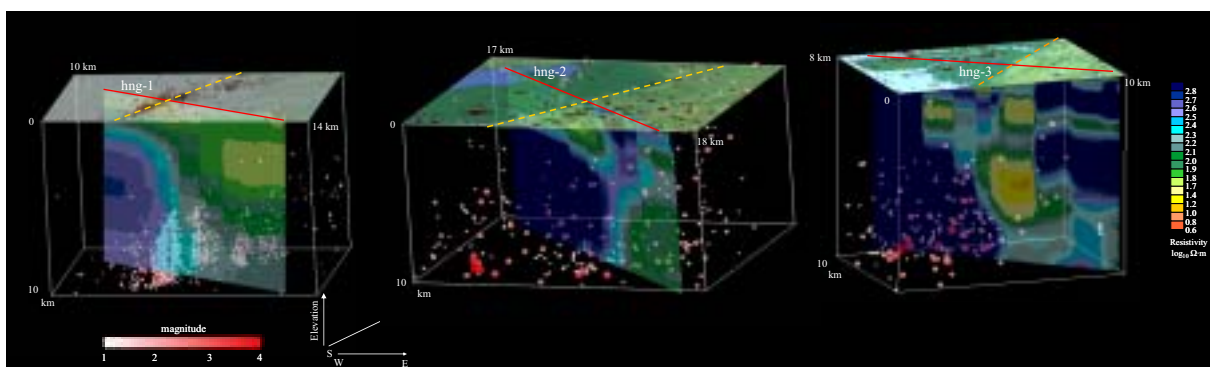


図9 日奈久断層の各測線でのMT比抵抗モデルと震源分布との重ね合わせ

## II. 曳航型比抵抗法による八代海の海底地質調査

九州山地に涵養された地下水は八代平野を流れ、その一部は八代海の海底から湧出しているが、湧出経路やそれと地質分布・構造の関係は不明である。また、八代平野と山地との境界には九州の代表的な活断層である日奈久断層が存在し、海域まで連続することが推定されている。断層が海底

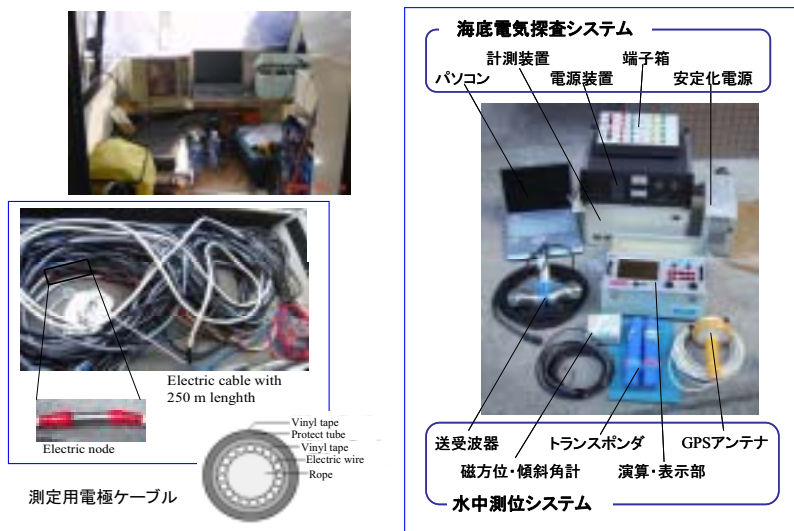


図10 曳航型海底電気探査法のための主な測定機器



湧水に強い影響を及ぼしていることは十分予想できる。海域で微小地震の震央が線状に並ぶという特徴もある。

このように特異な環境にある八代海の海底浅部の地質の種類と構造を把握するために、平成 17 年度に引き続いて曳航型海底電気探査法により深度 50 m までの比抵抗分布を明らかにした。これは、人工的に電流を流し、地下の比抵抗分布を求める電気探査比抵抗法の 1 つである。電極を測定用ケーブルに配置し、海底面上のケーブルの電極から電流を流して電位差を測定する。作業船には、電気探査の測定システムと船を測線上にナビゲーションするための D-GPS システム、海底地形と水深を正確に測量するための音響測深器、測定用ケーブルに取り付けたトランスポンダの位置を測量するための水中測位システムを装備している。主な計測装置は図 10 のようである。測定はケーブルを海底に沈めて、約 10 秒間隔で連続的に測定を行い、見掛け比抵抗曲線が安定した後、約 10~40 m 間隔ずつ船の移動と停船を繰り返して測線上を進む。図 11 に示すように測線は 8 本設け、総延長は 11 km であり、測定は 2006 年 10 月 6~13 日にかけて行った。

平成 17 年度には有明海に設定した総延長 14 km の 4 測線で電気探査を実施したところ、すべての測線で、表層約 2, 3 m の深度範囲で同様の比抵抗値の変化が現れた。この低比抵抗値を示す部分はシルト質、その上部の比抵抗値が少し高くなる部分は砂質の干潟であると考えられる。八代海の各測線での比抵抗分布を図 11 に表す。これは、測定で得られる見掛け比抵抗データを、海水の影響を除去しながら真の比抵抗値に変換する、というインバージョン解析の結果である。いずれの測線でも、最上部の比抵抗が最も小さいという傾向は有明海と共通している。日奈久断層の延長線が交差する測線 7 では、海底下浅部の比抵抗分布が大きく変化しており、比抵抗値が急増する。電解質が溶存する海水に比べて地下水の比抵抗は高い。また、活断層の動きが古ければ、堆積作用によって断層変位は新規の堆積物に覆われてしまい、比抵抗分布に断層の存在は現れない。よって、日奈久断層の活動は若く、繰り返し動いており、地下水湧出の良い通路になっていると考えられる。

次に、図 12 に前述の九州大学地震火山研究センターによる震央分布と各測線での比抵抗分布を比較する。測線 3 と 8 における 2 箇所比抵抗異常の位置が整合するので、これらを結ぶように日奈久断層の副次断層が潜在している可能性も考えられる。また、球磨川河口の測線 1~3 は局所的に比抵抗が高いゾーンを含むので、沿岸域に地下水の湧出経路が存在する可能性が高い。このように、曳航型海底電気探査とインバージョン解析の組み合わせは、海底下の比抵抗分

布をイメージングするのに有効であることが実証された。

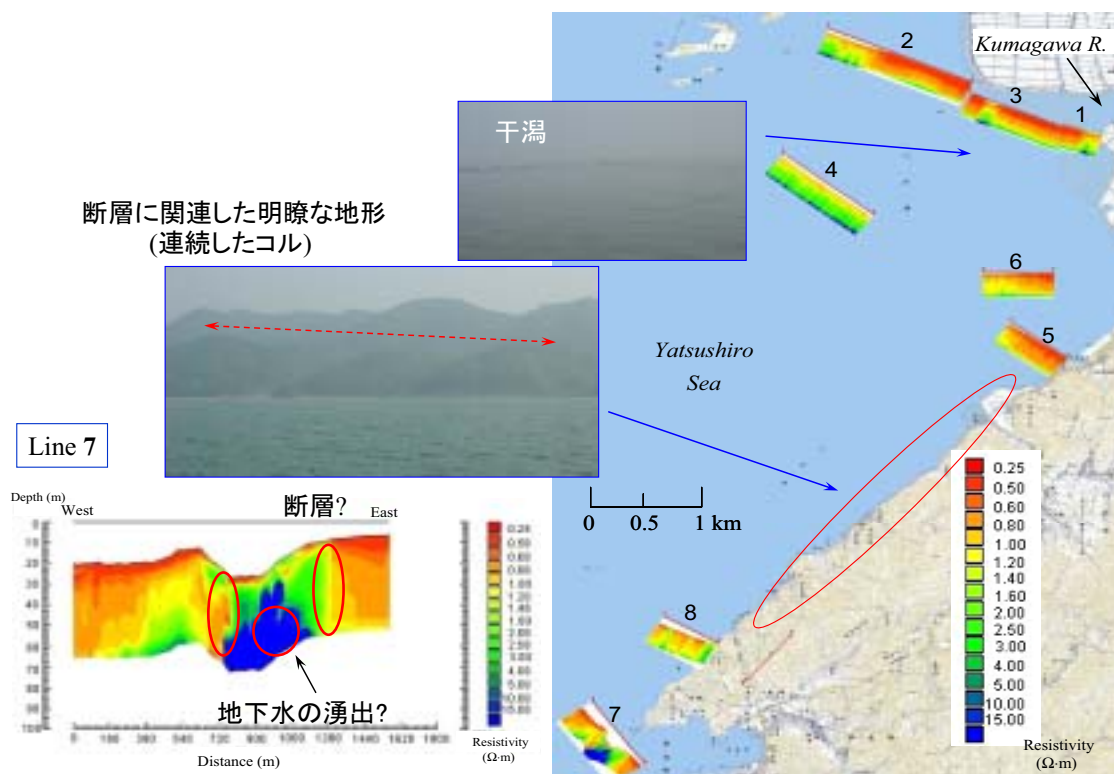


図 11 各測線に対する比抵抗のインバージョン解析結果

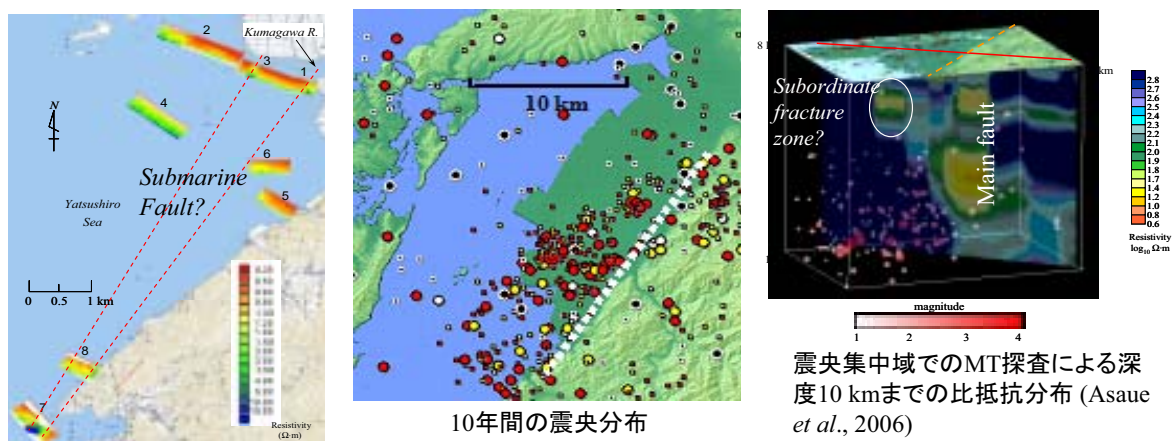


図 12 比抵抗分布と震央分布との関係

### 3. 成果の達成度

3つのサブテーマともに平成17年度の問題点に対処し、新たな解析手法や測定方法を見出したとともに、妥当な解析結果や測定データを増やすことができた。

海底電気探査という新たな計測方法についても八代海に適用でき、前年度以上に重要な知見が得られた。これらの観点からは、前述の平成 18 年度の目的・目標に関してほぼ達成できたと考える。しかしながら、海面温度以外の環境因子に注目した衛星画像解析に関しては不十分であり、次年度への継続課題となった。

#### 4. H19 年度の目的・目標

##### 4.1. 衛星リモートセンシング

- ・衛星画像解析によって表層物質の変化が地下水位に及ぼす影響、および地下水流動パターンの時間的変化を明らかにする。
- ・干潟試料の反射スペクトル測定から得られた結果を用い、LANDSAT 画像や Terra/ASTER 画像データの解析を進展させ、干潟堆積物の地質環境の時間的・空間的変化を明らかにする。
- ・海水や河川水における代表的な環境因子の時空間分布を、衛星画像から精度良く抽出できる手法を考案する。

##### 4.2. 数理モデル

- ・多変量地球統計学によって地下水位の時間的変化を詳細に明らかにするとともに、インバージョン解析を用いて透水係数の分布を求め、現地計測からその妥当性を検証する。
- ・透水性に関連する地質体の構造の空間モデリングを進展させ、これに鉱物分布や変質帯を重ね合わせることで物質移行のパターンや時間的変化を考慮できるようにする。

##### 4.3. 地磁気—地電流計測

- ・MT 法により熊本平野周辺の地下構造推定を進め、涵養域から流出域までの地下水系において、特に断層の存在の影響を明らかにする。さらに、海底電気探査の測線を追加し、海底に湧水する地下水の経路を比抵抗分布から詳細に推定するとともに、比抵抗分布の精度を向上させるために測定データのインバージョン解析法を改良する。

#### 5. H18 年度の研究費取得状況

- ・科学研究費 基盤研究 B (代表) : 6,400 千円
- ・日本原子力研究開発機構 先行基礎工学研究 (代表) : 3,000 千円

- ・ (財)日本鉱業振興会試験研究 (代表) : 700 千円
- ・ 熊本大学工学部科学研究助成 地域連携 (代表) : 1,000 千円
- ・ 寄附金 : 民間企業・(社)資源・素材学会より, 計 3,650 千円
- ・ 共同研究費 : 国立極地研・京都大学防災研 (分担) , 計 250 千円

## 6. H18 年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表

- ・ 国内誌 (和文)

田村綾子・小池克明・小林茂樹・田中健路 (2007) 衛星画像データを用いた地表物性推定における大気影響の検討と推定精度向上の一提案－LANDSAT TM 熱赤外データによる海面温度推定のケーススタディー, 情報地質, vol. 18, no. 1, p. 15-28.

- ・ 国際誌 (欧文)

Koike, K. and Ichikawa, Y. (2006) Spatial Correlation Structures of Fracture Systems for Identifying a Scaling Law and Modeling Fracture Distributions, *Computers & Geosciences*, vol. 32, no. 8, p. 1079-1095 (doi:10.1016/j.cageo.2006.02.013).

Koike, K. and Matsuda, S. (2006) New Indices for Characterizing Spatial Models of Ore Deposits by the Use of a Sensitivity Vector and Influence Factor, *Mathematical Geology*, vol. 38, no. 5, p. 541-564 (doi:10.1007/s11004-006-9030-3).

Masoud, A. and Koike, K. (2006) Tectonic Architecture through LANDSAT-7 ETM+/SRTM DEM-Derived Lineaments and Relationship to the Hydrogeologic Setting in Siwa Region, NW Egypt, *Journal of African Earth Sciences* vol. 45, nos. 4/5, p. 467-477 (doi:10.1016/j.jafrearsci.2006.04.005).

Nara, Y., Koike, K., Yoneda, T, and Kaneko, K. (2006) Relation between Subcritical Crack Growth Behavior and Crack Paths in Granite, *International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences*, vol. 43, no. 8, p. 1256-1261 (doi:10.1016/j.ijrmms.2006.03.016).

Liu, C. and Koike, K. (2007) Extending Multivariate Space-time Geostatistics for Environmental Data Analysis, *Mathematical Geology*, vol. 39, no. 3 (doi:10.1007/s11004-007-9085-2007) (in press)

#### 【国際会議プロシーディング】

Omura, M., Kobayashi, S., Koike, K., and Tomiyama, N. (2006) D-InSAR monitoring

- of ground deformations in a geothermal area in Kyushu, Japan, *Proceedings of the 3rd IAG Symposium on Geodesy for Geotechnical and Structural Engineering and 12th FIG Symposium on Deformation Measurements*, Baden, Austria, CD-ROM: ISBN 3-9501492-3-6.
- Koike, K., Suetsugu, K., Yoshinaga, T., and Liu, C. (2006) : Spatial heterogeneity of radon concentrations in top soils along an active fault zone, *Proceedings of XIth International Congress for Mathematical Geology (IAMG'06): Quantitative Geology from Multiple Sources*, Liège, Belgium, Sept. 3-8, S02-04 (p. 1-5), CD-Rom press.
- Liu, C., Koike, K., and Sanga, T. (2006) Geostatistical simulation of rock fractures distribution by considering directional elements, *Proceedings of IAMG'06*, S06-15 (p. 1-4), CD-Rom press.
- Koike, K. (2006) How can we model correctly invisible geologic structures and properties from small pieces of geological information?, *Proceedings of 9th International Symposium on Mineral Exploration (ISME IX)* (Koike, K., Notosiswoyo, S., Kouda, R., and Sulistianto, B., eds. ), Sept. 19-21, 2006, Institut Teknologi Bandung, p. 1-8.
- Heriawan, M. N. and Koike, K. (2006) Transition probability geostatistics for spatial variability of coal sequences and qualities, *Proceedings of ISME IX*, p. 23-30.
- Suetsugu, K., Yoshinaga, T., and Koike, K. (2006) Radon in terrestrial gas as useful indicator for characterizing fault activity and geothermal reservoir, *Proceedings of ISME IX*, p. 229-235.
- Saepuloh, A., Koike, K., Omura, M., and Iguchi, M. (2006) The application of Pi-SAR polarimetric data to detect surface condition of an active volcano, *Proceedings of ISME IX*, p. 236-241.
- Ayshamgu, W. and Koike, K. (2006) Satellite remote sensing for characterizing progress of desertification in the northern Tarim Basin, China, *Proceedings of 4th International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, p. 15-20.
- Liu, C., Koike, K., and Sanga, T. (2006) Three dimensional simulation of rock fractures by geostatistical method with consideration of directional elements, *Proceedings of 4th International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, p. 29-36.

- Moukana, J. A. and Koike, K. (2006) Detailed mapping of spatio-temporal variability of shallow groundwater levels using multivariate cokriging, *Proceedings of 4th International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, p. 169-174.
- Teng, Y., Suetsugu, K., Yoshinaga, T., and Koike, K. (2006) Fault zone characterization in geothermal field by 3D geologic modeling and radon prospecting, *Proceedings of 4th International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, p. 175-180.
- Saepuloh, A., Koike, K., and Omura, M. (2006) Clarification of flow areas of volcanic materials accompanied by the historical eruption of Mt. Merapi, Indonesia using RADARSAT SAR images, *Proceedings of 4th International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, p. 181-186.
- Teng, Y. and Koike, K. (2006) Permeability estimation in geothermal area by inversion analysis of 3D temperature distribution using well-logging data, *Proceedings of 4th International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, p. 187-192.
- Koike, K., Tominaga, H., Kaneko, H., Yoshinaga, T., Shimada, J., Inoue, M., Takaoka, H., and Asaue H. (2006) Evaluation of submarine groundwater discharge by resistivity survey on the sea bottom floor of Ariake and Yatsushiro seas, Japan, *Proceedings of International Symposium on "Interrelations between seawater and groundwater in the coastal zone and their effect on the environmental nutrient load toward the sea"*, Kumamoto Univ., Japan, p. 72-77.

## (2) 原著論文以外による発表

- 麻植久史・小池克明・吉永 徹・高倉伸一 (2006) 布田川一日奈久断層帯の深部比抵抗構造と微小地震源分布との関連性, *情報地質*, vol. 17, no. 2, p. 90-91.
- Heriawan, M. H. and Koike, K. (2006) Spatially correlating coal quality with seam structure in a multilayer coal deposit, *情報地質*, vol. 17, no. 2, p. 96-97.
- 小池克明・中津留隆史・田村綾子・吉永 徹・山田文彦 (2006) リモートセンシングによる干潟の地質的分類, *情報地質*, vol. 17, no. 2, p. 106-107.
- Liu, C., Koike, K., and Sanga, T. (2006) Geostatistical simulation considering directional elements with application to rock fracture distribution, *情報地質*,

vol. 17, no. 2, p. 110-111.

Saepuloh, A., Koike, K., Omura, M., and Iguchi, M. (2006) Image processing of Pi-SAR polarimetric data for detecting geomorphologic and structural features of an active volcano, 情報地質, vol. 17, no. 2, p. 134-135.

小池克明 (2006) 地圏環境インフォマティクスに必要な空間モデリング法, 資源・素材 2006 (福岡) 企画発表・一般発表 (C) (D) 講演資料, p. 81-84.

### (3) 学会発表

末次健太・吉永 徹・小池克明 (2006) 活断層帯表層での放射性核種濃度の不均質分布とその要因, 資源・素材学会九州支部平成 18 年春季例会講演要旨集, p. 46-48.

金子大樹・富永英彦・吉永 徹・小池克明・麻植久史 (2006) 日奈久断層の深部比抵抗モデリングと地質構造推定, 資源・素材学会九州支部平成 18 年春季例会講演要旨集, p. 49-51.

小林茂樹・大倉 博・大村 誠・小池克明・橋本 学・大久保修平 (2006) ENVISAT 衛星の HH 偏波 SAR による干渉処理, 平成 18 年度東京大学地震研究所共同利用研究集会「新世代の干渉 SAR」プログラム・要旨, [18]: p. 1-2.

Saepuloh, A., Koike, K., Omura, M., and Iguchi, M. (2006) Extracting topographic change pattern with Mt. Merapi eruption and the Yogyakarta Earthquake in Indonesia by RADARSAT D-InSAR, ENVISAT 衛星の HH 偏波 SAR による干渉処理, 平成 18 年度東京大学地震研究所共同利用研究集会「新世代の干渉 SAR」プログラム・要旨, [21]: p. 1-2.

麻植久史・小池克明・吉永 徹・高倉伸一 (2006) 布田川一日奈久断層帯の深部比抵抗構造と微小地震源分布との関連性, 日本応用地質学会平成 18 年度研究発表会講演論文集, p. 329-330.

富永英彦・小池克明・嶋田 純・井上 誠・高岡秀朋・麻植久史 (2006) 曳航型比抵抗法による有明海の海底表層地質分布のイメージング, 日本応用地質学会平成 18 年度研究発表会講演論文集, p. 527-528.

小池克明・籾 云・Masoud, A. (2007) 地質情報の統合による断層の広域的透水性の推定, 資源・素材学会春季大会講演集 (I) 資源編, 企画-1-2.

Liu, C., Koike, K., and Sanga, T. (2007) Three dimensional simulation method of rock fractures using geostatistics with a case study of granitic area, 資源・素材学会春季大会講演集 (I) 資源編, 企画-3-4.

## 平成18年度研究成果報告

研究課題名：高速に金属イオンを捕集する繊維状キレート系吸着剤の開発と応用  
工学部物質生命化学科・城 昭典

### 1. 研究目的・目標

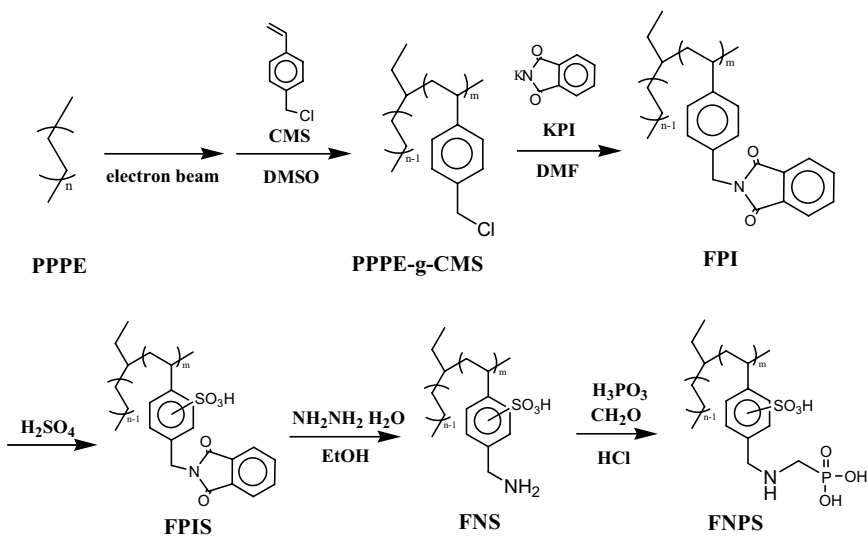
#### H15年度～21年度における目的・目標

キレート樹脂は各種金属イオンの選択的捕集に広範に使用されているが、工業的規模の分離に用いる粒状キレート樹脂はカラム法で用いる場合の圧損を小さくするため、粒径が0.2-1 mmと大きくイオン吸着速度が遅い。キレート樹脂のイオン吸着容量、イオン選択性などの平衡論的性質についてはほぼ完成の域に達しているが、速度論的特性には改善すべき余地が多い。

本研究では有害金属イオンの吸着速度が、今日工業的規模で使用されている粒状樹脂よりも100倍以上高速であり、かつカラム法における圧損も小さい二官能性キレート繊維の開発を目標としている。迅速な吸着速度を有するキレート繊維は希薄な有害金属イオンで汚染された膨大な量の水の迅速浄化に応用できるほか、金属イオンの回収・濃縮に要する時間の短縮にも資するところも大きい。さらに、金属イオン分析における高速前段濃縮による高感度化にも有用であると期待できる。

#### H18年度の目的・目標

最近、水生生物の保全を図ることを目的して下水道法施行令が一部改正され、特定事業場から下水道に排除される下水中の「亜鉛およびその化合物」の排出基準が5 mg/Lから2 mg/Lに強化された。このことを考慮して、本年度は希薄な亜鉛



Scheme 1 Preparation route for a bifunctional chelating fiber FNPS containing aminomethylphosphonate and sulfonate



イオン汚染水の迅速浄化が可能と期待できるアミノメチルホスホン酸とスルホン酸を有する二官能性キレート繊維FNPSの合成法 (Scheme 1) を確立するとともに、そのカラム法における亜鉛イオン吸着特性を評価した。

## 2. 平成18年度の研究成果

### ①アミノメチルホスホン酸とスルホン酸を官能基とする二官能性キレート繊維の合成

スルホン酸の導入にクロロスルホン酸と硫酸のいずれを用いるかについての試行錯誤的検討を重ねて、Scheme 1に示した合成経路を確立した。まず、電子線 (2 MeV, 200 kGy) を照射したポリエチレンで被覆されたポリプロピレン繊維 (PPPE, 0.9 denier) をクロロメチルスチレン (CMS) のDMSO溶液 (50 wt%) と40°Cで7時間反応させて基体繊維PPPEとほぼ同重量のCMSがグラフト重合された繊維PPPE-*g*-CMSを合成した。PPPE-*g*-CMSをフタルイミドカリウムのDMF溶液と反応させて繊維FPIを得た。次に、繊維FPIと硫酸 (95%) を40°Cで6時間反応させてスルホン酸を導入して繊維FPISを得た。耐圧試験管中で繊維FPISと抱水ヒドラジンの5%エタノール溶液を80°Cで2時間反応させてフタルイミド部位を加水分解して第一アミノ基へと変換した繊維FNSを得た。繊維FNSを塩酸存在下、亜リン酸とパラホルムアルデヒドと反応させ、第一アミノ基をアミノメチルホスホン酸基へと転換し目的の二官能性繊維FNPSを得た。

合成の各段階における官能基の導入または転換はFT-IRスペクトルの測定により確認した。Table 1に官能基導入反応を6回反復して得た繊維FNPSの化学分析の結果を要約した。各測定値の標準偏差は数%程度であり、本研究で提案した合成法の再現性は良好であることが分かる。

繊維FNPSがScheme 1に示した構造を有しているならば酸容量はリン含量の2倍と硫黄含量との和である6.6 meq/gとなるべきである。しかし実測値は計算値よりやや小さい。これは一部の窒素原子に2個のアミノメチルホスホン酸が導入されているので、アミノメチルホスホン酸基のすべてが理想的電気的中性種となっていないためと推察している。

Table 1 Results of chemical analysis of the fiber FNPS

Nitrogen content (mmol/g)	Phosphorus content (mmol/g)	Sulfur content (mmol/g)	Acid capacity (mmol/g)
1.5 (0.1) <sup>a)</sup>	2.8 (0.1) <sup>a)</sup>	1.0 (0.1) <sup>a)</sup>	6.0 (0.3) <sup>a)</sup>

<sup>a)</sup> Figures in parentheses are standard deviations.

## ②繊維FNPSのカラム法における亜鉛イオン吸着特性

Figure 1Aは、2.0 mLの湿潤繊維FNPSを充填したカラムに0.010 M 硝酸亜鉛溶液（pHは硝酸にて2.0に調整）を種々の速度で通液した場合の亜鉛イオンの破過曲線を示す。ここで、 $C/C_0$ はカラム流出液中の亜鉛濃度（ $C$ ）と供給液中の亜鉛濃度（ $C_0$ ）の比を示す。SVはSpace Velocity（空間速度）を示し、mL/hで示される通液速度をカラム中の繊維床体積で除した通液速度（単位は $h^{-1}$ ）を表す。Figure 1Aより空間速度 $1000 h^{-1}$ までは破過曲線の形状がほとんど通液速度に依存しておらず、二官能性繊維FNPSが強酸性であるpH 2においても極めて迅速に亜鉛イオンを吸着していることがわかる。

河川水のpHは中性に近いので0.010 Mの硝酸亜鉛水溶液（pH 5.4）を、空間速度 $1000 h^{-1}$ ならびに $2000 h^{-1}$ で通液した場合の結果をFigure 1Bに示す。この場合も亜鉛イオンの破過曲線の形状はほとんど通液速度に依存していない。

$C/C_0$ が0.05となるまでに吸着された金属イオンの繊維単位重量あたりの吸着量を5 %破過容量と称するが、いずれのpHにおいても5 % 破過容量は通液速度の増加とともに若干減少する傾向がみられた。5 % 破過容量は、pH 2.0の場合で0.70 - 0.85 mmol/gであり、pH 5.4の場合で0.78 - 0.93 mmol/gであった。なお、繊維に吸着された亜鉛イオンは1 M塩酸により定量的に溶離され、繊維の反復使用も可能であった。本報告で述べる結果は1本のカラムを用いて、吸着、溶離ならびに再生操作を反復して得た結果である。

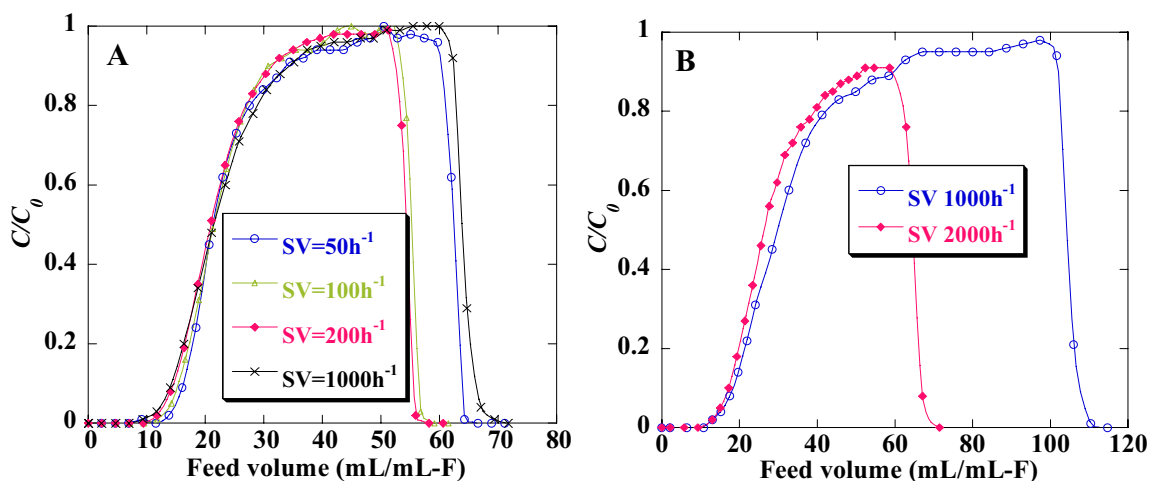


Figure 1 Column-mode uptake of Zn (II) from feeds containing 0.010 M of zinc nitrate. pH of feeds: A 2.0 and B 5.4. Column: 2 mL of wet FNPS in hydrogen ion form. Flow rates of feeds in space velocity (SV) are shown in each inset.

### ③亜鉛イオンの希薄溶液からの吸着

亜鉛の規制値が5 mg/Lから2 mg/Lに強化されたので、 $1.0 \times 10^{-4}$  M (6.5 mg/L) 程度の亜鉛イオンを含む水の水の浄化を検討した。この検討においては、カラムへの供給液の通液速度を $1000 \text{ h}^{-1}$ と一定にした。供給液中の硝酸亜鉛の濃度を0.010, 0.0010および0.00010

Table 2 Effect of concentration of Zn (II) in feeds on 5 % breakthrough capacity

Concentration of Zn(II) in feed (mg/L)	5 % Breakthrough point (mL/L-F)	5 % Breakthrough capacity (mmol/g)
6.5	2360	1.3
6.5	2360	1.3
65	188	1.0
65	189	1.0
650	16.9	0.93
650	15.9	0.88

Mと変えて亜鉛イオンの5 %破過容量を求めた。結果をTable 2に要約する。5 %破過点は供給液中の亜鉛イオン濃度の減少とともに若干ではあるが増加している。6.5 mg/Lの亜鉛イオン水溶液を用いた場合、5 %破過点は2360 mL/mL-Fであるが、これはカラム内の繊維体積の2360倍の亜鉛汚染水の浄化が可能であることを意味している。

日本の河川における主要な陽イオンはカルシウムとマグネシウムイオンである。河川水が亜鉛イオンで汚染された場合を想定し、ここでは日本の主要な河川水と同レベルのカルシウムイオンまたはマグネシウムイオンが共存する場合の妨害効果について検討した。その結果をTable 3に示す。カルシウムイオン共存下では、Zn(II)の5 %破過点は約1000 mL/mL-F前後まで低下するが、マグネシウムイオンの妨害はカルシウムイオンより少ない。また、亜鉛の排出規制値である2.0 mg/Lまでの破過点はカルシウムイオン共存下でも2000 mL/mL-F程度であり、マグネシウムイオン共存下における2.0 mg/Lの破過点は2000 mL/mL-F以上となった。本研究で開発した繊維は、 $2000 \text{ h}^{-1}$ の高速通液条件下でも、ほとんどみるべきカラム圧損を伴わないとの特徴を有している。

以上より、本研究で開発した二官能繊維FNPSは数mg/L程度の亜鉛イオンで汚染された水の高速度浄化に有用であると期待できる。例えば、 $1 \text{ m}^3$ のFNPSを充填したカラムを用いれば数ppmの亜鉛イオンで汚染された河川水2000 tを2時間で浄化可能と期待される。

Table 3 Effect of calcium and magnesium ions on uptake of zinc ion

Composition of feed <sup>a)</sup> (mg/L)	5 % Breakthrough point of Zn (II) (mL/mL-F)	5 % Breakthrough capacity for Zn (II) (mmol/g)	2 mg/L Breakthrough point (mL/mL-F)
Zn (II) 6.5, Ca 10.5	945	0.62	ca 2000
	1030	0.71	ca. 2000
Zn (II) 6.5, Mg 2.9	1480	0.82	More than 2000
	1500	0.84	More than 2000

<sup>a)</sup> Flow rate of feeds was 1000 h<sup>-1</sup> in space velocity.

## 2. 成果の達成度

当初計画を達成できた。今年度は、2000 h<sup>-1</sup>までは破過容量がほとんど低下しないとの重要な知見を得た。目的が異なるのでこの報告書では言及していないが、銅(II)の吸着においては、空間速度5000 h<sup>-1</sup>まで通液した場合についてもカラム圧損も小さく、破過容量は若干減少する程度であるとの結果を得ている。換言すると従来の樹脂充填カラムでは500日かかる通液吸着操作を僅か1日で完了できることを意味する。

## 3. 今年度の問題など

特になし。

## 4. 来年度の目的・目標

次年度はFNPSの応用面の拡大に関する検討と新たに水中の硝酸イオンを迅速に吸着する繊維状吸着剤の開発も行う。

## 5. 平成18年度の研究費取得状況

- (1) 三井金属鉱業株式会社との共同研究，2006年，200万円，濃厚金属塩溶液中の微量フッ化物イオンの除去を目的とする高機能選択吸着剤の開発に関する研究
- (2) 財団法人鉄鋼業環境保全技術開発基金，2006年，141万円，亜鉛イオンを高速で吸着する二官能性キレート繊維による亜鉛汚染水の浄化

## 6. 平成16年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表

#### ①国内誌（和文）

1) 岡田健治、瀬古典明、玉田正男、城 昭典、繊維状二官能性ホスホン酸—スルホン酸系陽イオン交換体の開発と応用、JAEA-Review 2006-042, p. 44 (2007) .

#### 国内誌（英文）

2) Akinori Jyo, Yoshikazu Shibata, Masao Tamada, Noriaki Seko, and Akio Katakai, Development of Bifunctional Chelating Fibers with High Performance in Metal Ion Adsorption Kinetics, JAEA-Review 2006-043 p.43 (2007) .

3) Akinori Jyo, Yuko Hamabe, and Yasuyuki Hirashima, Metal Ion Selectivity of Bifunctional Resin Containing Aminomethylphosphonate and Sulfonate, The Proceeding of International Symposium on Ion Exchange in Korea (2006) and 22<sup>nd</sup> Annual Meeting of JAIE, pp. 9-10 (2006) .

4) Manabu Sugimoto, Yuko Hamabe, and Akinori Jyo, Electronic Structure Study on Metal Ion Selectivity of Phosphoric and Sulfonic Acid Ion Exchange Resins, The Proceeding of International Symposium on Ion Exchange in Korea (2006) and 22<sup>nd</sup> Annual Meeting of JAIE, pp. 61-62 (2006) .

5) Kei Tomiyasu, Shigeki Ikeda, Akinori Jyo, Tetsuya Yamaki, and Masaru Yoshida, Phosphonic Acid Type Cation Exchange Membrane Prepared by Gamma-ray Induced Graft Polymerization, The Proceeding of International Symposium on Ion Exchange in Korea (2006) and 22<sup>nd</sup> Annual Meeting of JAIE, pp. 91 -92 (2006) .

#### ② 国際誌（欧文）

なし

### (2) 原著論文以外による発表

なし

(3) 口頭発表

- 1) Akinori Jyo, Yoshikazu Shibata, Yuki Fujii, Masao Tamada, and Akio Katakai, Bifunctional Chelating Fiber Containing Aminomethylphosphonate and Sulfonate. 233<sup>rd</sup> American Chemical Society National Meeting, I&EC 183, March 25-29, 2007. Chicago, IL, U.S.A.
- 2) Akinori Jyo, Yuko Hamabe, and Yasuyuki Hirashima, Metal Ion Selectivity of Bifunctional Resin Containing Aminomethylphosphonate and Sulfonate, International Symposium on Ion Exchange in Korea (2006) and 22<sup>nd</sup> Annual Meeting of JAIE, October 19 – 20, 2006, Yonsei University, Seoul, Korea.
- 3) Manabu Sugimoto, Yuko Hamabe, and Akinori Jyo, Electronic Structure Study on Metal Ion Selectivity of Phosphoric and Sulfonic Acid Ion Exchange Resins, International Symposium on Ion Exchange in Korea (2006) and 22<sup>nd</sup> Annual Meeting of JAIE, October 19 – 20, 2006, Yonsei University, Seoul, Korea.
- 4) Kei Tomiyasu, Shigeki Ikeda, Akinori Jyo, Tetsuya Yamaki, and Masaru Yoshida, Phosphonic Acid Type Cation Exchange Membrane Prepared by Gamma-ray Induced Graft Polymerization, International Symposium on Ion Exchange in Korea (2006) and 22<sup>nd</sup> Annual Meeting of JAIE, October 19 – 20, 2006, Yonsei University, Seoul, Korea.
- 5) Akinori Jyo, Yuko Hamabe, and Yasuyuki Hirashima, Synthesis and Properties of Bifunctional Chelating Resin Containing Aminomethylsulfonate and Sulfonate. 12<sup>th</sup> International Conference on Polymers and Organic Chemistry 2006, July 2-7, 2006, Okazaki Conference Center.
- 6) Kazumi Nagata, Tomomi Fukunaga, Kenji Okada, Akinori Jyo, Masao Tamada, and Toshihiro Ihara, Polymer Supported Active Esters for Preparation of Functional Amides, 12<sup>th</sup> International Conference on Polymers and Organic Chemistry 2006, July 2-7, 2006, Okazaki Conference Center.
- 7) Md. Rabiul Awual, Shinya Urata, Akinori Jyo, Masao Tamada, and Akio Katakai, Anion Exchange Fibers for Rapid and Selective Removal of Arsenate Species in Water, 12<sup>th</sup> International Conference on Polymers and Organic Chemistry 2006, July 2-7, 2006, Okazaki Conference Center.
- 8) 城 昭典、玉田正男、高速に金属を吸着する捕集剤の開発（招待講演）、第1回高橋量子応用研究シンポジウム、— イオンビーム、電子線、ガンマ線を用いた材料、バイオ、環境研究 —、2006年6月22-23日、高橋シティギャラリーコアホール。

9) 岡田健治、瀬古典明、玉田正男、城 昭典、ホスホン酸－スルホン酸型二官能性吸着剤の合成とその評価、第1回高碕量子応用研究シンポジウム、—イオンビーム、電子線、ガンマ線を用いた材料、バイオ、環境研究—、2006年6月22-23日、高碕シティギャラリーコアホール。

10) 池上 文，松浦博孝，井原敏博，城 昭典，玉田正男，片貝秋雄，水酸基とイミノ二酢酸を有するキレート繊維の金属イオン分離への応用  
日本分析化学会第55年会，2006年9月22日，大阪大学豊中キャンパス。

11) 柴田良和，松浦博孝，井原敏博，城 昭典，玉田正男，片貝 秋雄、スルホン酸とアミノメチルスルホン酸を有する二官能性キレート繊維の亜鉛イオン吸着特性  
日本分析化学会第55年会，2006年9月22日，大阪大学豊中キャンパス。

12) 森岡佑介，松浦博孝，井原敏博，城 昭典，玉田正男，片貝秋雄，スルホン酸とイミノ二酢酸を有する二官能性キレート繊維の金属イオン吸脱着特性  
日本分析化学会第55年会，2006年9月22日，大阪大学豊中キャンパス。

13) 秋野美穂，松浦博孝，井原敏博，城 昭典  
スルホン酸とイミノ二酢酸を有する二官能性キレート樹脂の金属イオン分離への応用  
日本分析化学会第55年会，2006年9月22日，大阪大学豊中キャンパス。

## 平成18年度研究成果報告

研究課題名：重金属系環境汚染物質の無害化と資源リサイクル

所属・氏名：大学院自然科学研究科・河原正泰

### 1. 研究目的・目標

#### H15年度～21年度における目的・目標

水環境汚染物質の動態評価研究の一環として、微量環境汚染物質の定量、主として重金属の挙動に関する研究を行う。すなわち、水中の有害金属元素および有害無機陰イオンの定量と固定ならびに除去、廃棄物からの有害金属元素の水への溶出防止、廃棄物に含まれる金属元素の分離・回収と無害化を目的として研究を行う。

#### H18年度の目的・目標

環境汚染物質である重金属が河川や海に流入すると深刻な環境問題を引き起こすため、重金属を含む廃棄物は厳重に管理されている。また最近では、最終処分場の逼迫と循環型社会構築の観点から、廃棄物の有効利用が求められている。本研究では、さまざまな廃棄物から有価金属を回収し、廃棄物を無害化するためのプロセスについて検討を加えている。前年度までは、一般廃棄物を焼却した時に発生する飛灰ならびに焼却灰を熔融処理した際に発生する熔融飛灰を無害化すると同時に、有価金属を回収するための酸による浸出プロセスと浸出貴液からの沈殿分離法による金属回収に関する研究を行った。本年度は、鉄スクラップを再溶解してリサイクルする時に発生する「電気炉ダスト」から湿式処理によって有価金属を回収し、ダストを無害化するための酸による浸出と沈殿分離法による金属の回収プロセスについて検討を加えた。

### 2. 平成18年度の研究成果

#### ① 試料

表1に、本研究に用いた電気炉ダストの組成を示す。試料の電気炉ダストには亜鉛が10～13%含まれており、これは十分に亜鉛の回収対象になる品位である。また、同時に鉛も0.4～0.7%含まれているため、この処理が問題となる。今回の研究では、これらの電気炉ダストに含まれる亜鉛、鉛および鉄の挙動について検討を加えた。

図1には、dustBのX線回折結果を示す。他のダストのX線回折結果も同様であり、電気炉ダストはジンクフェライトが主体であることが分かる。他のピークは観察されなかったが、電気炉ダスト中の金属元素は、その多くが酸化物の形で存在していることが知られている。



② 酸浸出

図2に、dustBを硝酸浸出したときの硝酸濃度と各元素の浸出率との関係を示す。硝酸浸出では、すべての元素が比較的高い割合で浸出された。

表1 試料の化学分析組成

	Zn	Pb	Fe	Al	Co	Mn	Ni
dust A	12.53	0.384	32.4	0.51	0.025	2.04	0.17
dust B	13.48	0.686	37	0.41	0.019	3.12	0.12
dust C	9.2	0.636	39.4	0.41	0.017	2.8	0.21

	Mg	Si	Ca	Cr	S	Cl	F
dust A	1.28	1.61	6.59	0.6	0.44	0.82	4.12
dust B	1.12	1.28	6.21	0.55	0.42	0.53	3.74
dust C	1.16	1.2	7.02	0.76	0.43	0.51	3.71

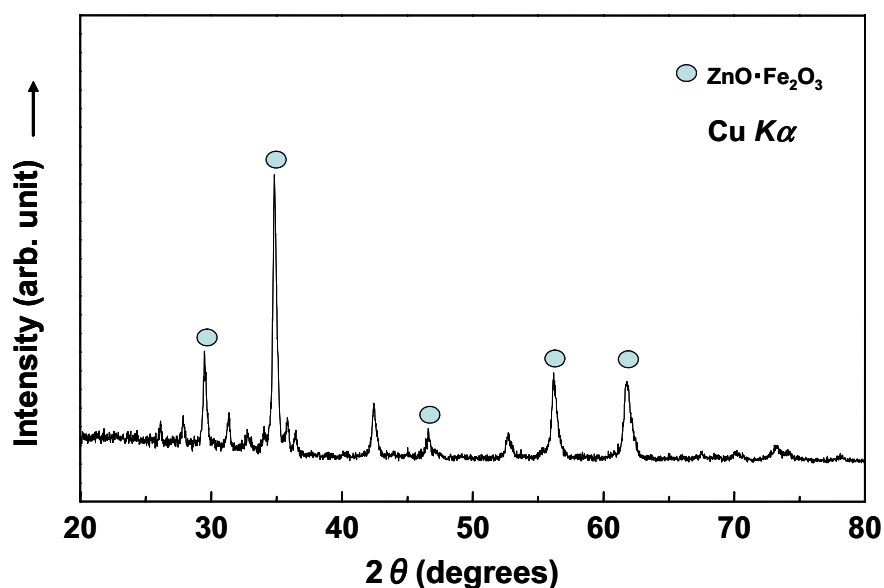


図1 dustBのX線回折結果

図3には、同じダストを硫酸浸出したときの硫酸濃度と各元素の浸出率との関係を示した。硝酸浸出では鉛の浸出率が他の元素よりも高かったが、硫酸浸出では硝酸浸出とは異なり、鉛の浸出が低く抑えられた。これは、硫酸を用いると、鉛が溶解度の小さな硫酸鉛になるためと考えられる。

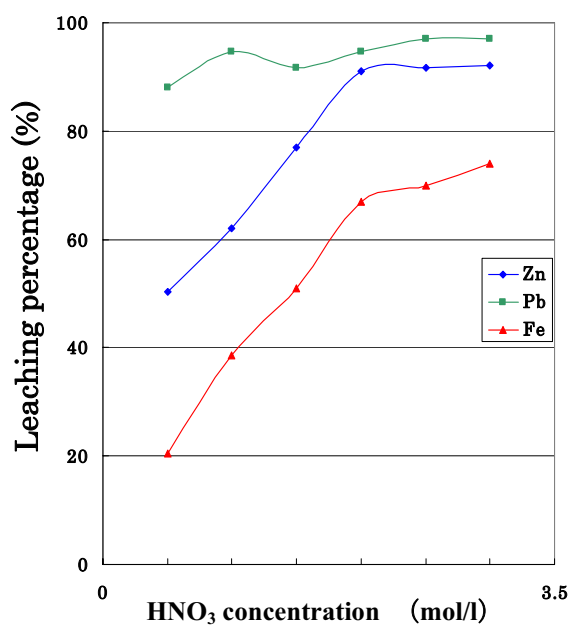


図 2 dustB を硝酸浸出したときの硝酸の硫酸濃度と各元素の浸出率との関係の関係

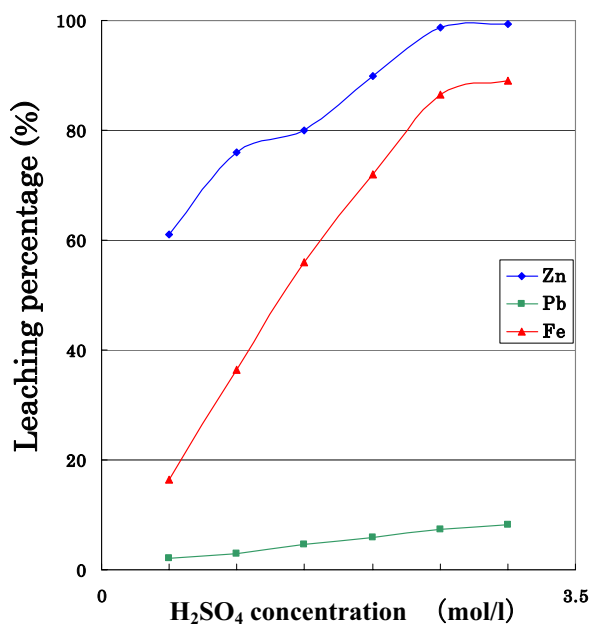


図 3 dustB を硫酸浸出したとき濃度と各元素の浸出率との関係

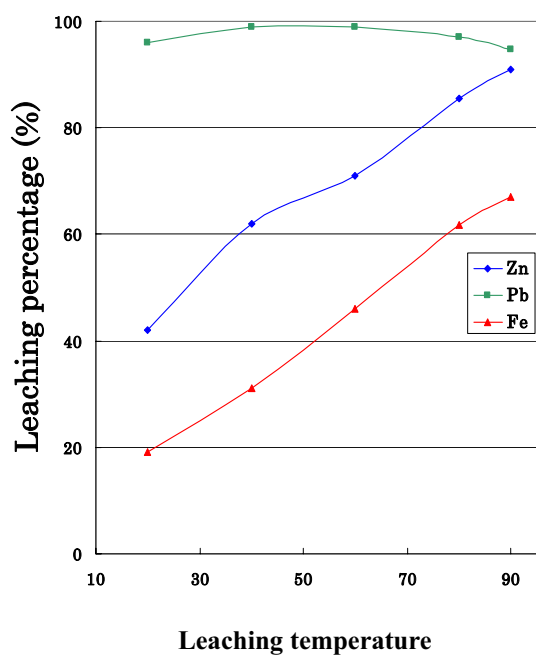


図 4 dustB を硝酸浸出したときの浸出温度と各元素の浸出率との関係

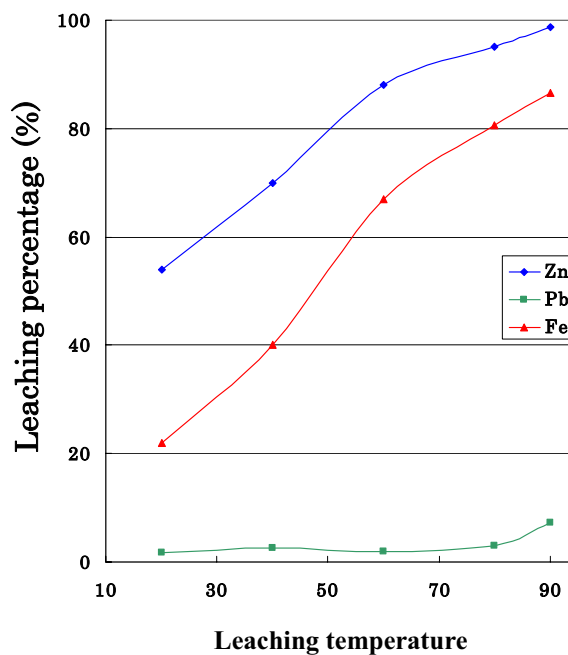


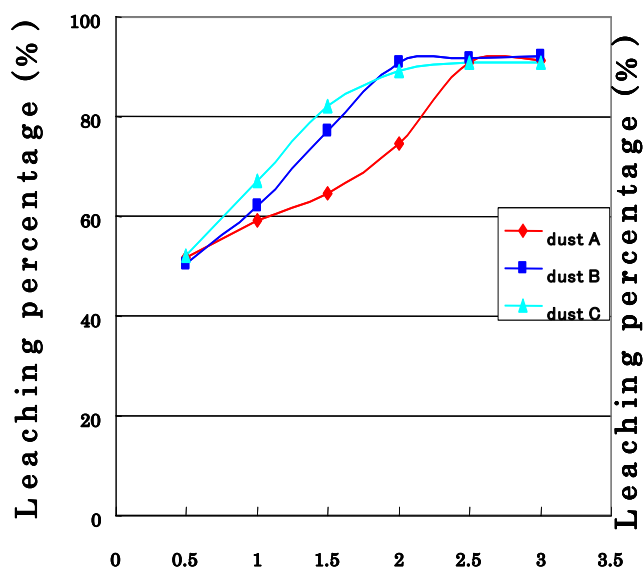
図 5 dustB を硫酸浸出したときの浸出温度と各元素の浸出率との関係

図 4 に、dustB を硝酸浸出したときの浸出温度と各元素の浸出率との関係を示

す。また、図5には、同じダストを硫酸浸出したときの浸出温度と各元素の浸出率との関係を示した。どちらの酸においても、亜鉛と鉄の浸出率に及ぼす浸出温度の影響は大きく、特に硫酸浸出における鉄の浸出率は、室温では20%程度であったものが、90℃では約90%に達した。硝酸浸出における鉛の浸出率に及ぼす浸出温度の影響はほとんどなく、硝酸浸出では、室温でも鉛はほとんど浸出された。一方、硫酸浸出では、高温においても鉛はほとんど浸出されなかった。

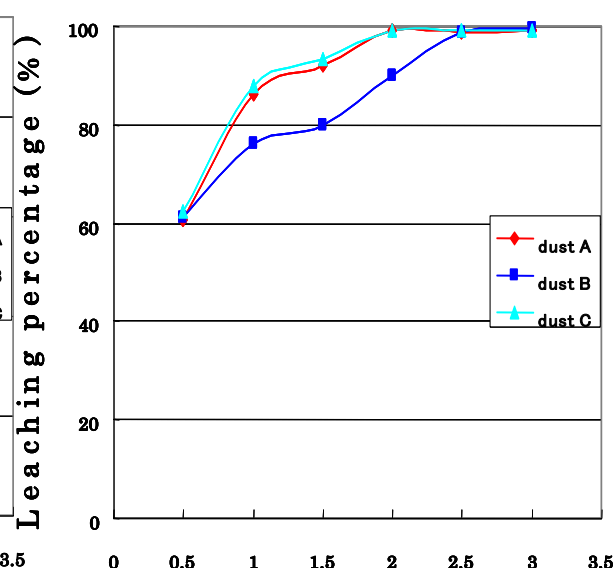
硝酸浸出では鉛が優先的に浸出され、硫酸浸出では鉛が浸出されないことから、電気炉ダストから鉛を除去して無害化するためには、硝酸浸出が有効であると考えられる。一方、有価金属の回収の点では、試薬の価格が安く、かつ選択浸出が可能な硫酸浸出の方が有利であると考えられる。ただし、硫酸浸出の場合は、含鉛残渣を処理する必要が生じる。さらに、鉛の浸出挙動が亜鉛や鉄と異なっていることから、ダスト中の鉛は、亜鉛や鉄とは別相を形成していると考えられる。また、鉄があまり浸出されない条件でも亜鉛がある程度浸出されていることから、亜鉛の約20%はジンクフェライトではなく、酸に溶けやすい粗酸化亜鉛として存在していると推察される。いずれにしても、亜鉛の浸出を完全に行うためには、ジンクフェライトが分解する浸出条件にしなければならないことが分かった。

### ③ ダスト組成による浸出挙動の違い



**HNO<sub>3</sub> concentration**

図6 組成の異なるダストにおける硝酸浸出時の硫酸濃度と亜鉛の浸出率との関係



**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentration**

図7 組成の異なるダストにおける硫酸浸出時の硝酸濃度と亜鉛の浸出率との関係

図6に組成の異なるダストを硝酸浸出したときの、硝酸濃度と亜鉛の浸出率との関係を示す。また、図7には、組成の異なるダストを硫酸浸出したときの、硫酸濃度と亜鉛の浸出率との関係を示した。いずれの場合も、亜鉛の浸出率のダスト組成による違いはあまり見られなかった。また、他の金属元素の浸出挙動についても、ダストの種類による違いはほとんど見られず、本法は組成の異なるダストにも適応可能であると思われる。

#### ④沈殿分離

図8に、dustBを硝酸浸出して得られた貴液を炭酸カルシウムでpH調整したときの、溶液のpHと各元素の残存率を示す。炭酸カルシウムで溶液のpHを上げていくと、まず鉄が沈殿し始め、鉄はpH約3.5で溶液中からほぼ完全に沈殿除去された。鉛の沈殿はpH約3から始まり、pH約5.5で、ほとんどの鉛が沈殿した。鉄と鉛が溶液中から沈殿除去されるpHでも、約95%の亜鉛が溶液中に残存していた。

図9には、dustBを硫酸浸出して得られた貴液を水酸化ナトリウムでpH調整したときの、溶液のpHと各元素の残存率を示す。ここで鉛の挙動を示していないのは、硫酸浸出では貴液中に鉛がほとんど含まれていないためである。また、硫酸浸出貴液のpH調整に炭酸カルシウムを使わなかった理由は、炭酸カルシウムをpH調整に用いると石膏が生成し、固液分離が困難になるためである。硫酸浸出貴液のpHを水酸化ナトリウムで上げていくと、まず鉄が沈殿し始め、鉄はpH約3.5で溶液中からほぼ完全に沈殿除去された。このpHで、亜鉛の約95%が溶液中に残存していた。

これらの結果から、酸浸出と沈殿分離を用いて、電気炉ダストから金属元素を回収することができると判断される。

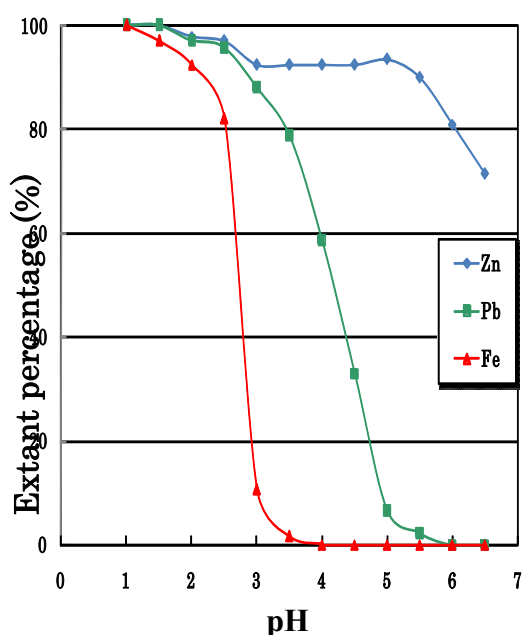


図8 dustBの硝酸浸出貴液をCaCO<sub>3</sub>でpH調整したときの各元素の挙動

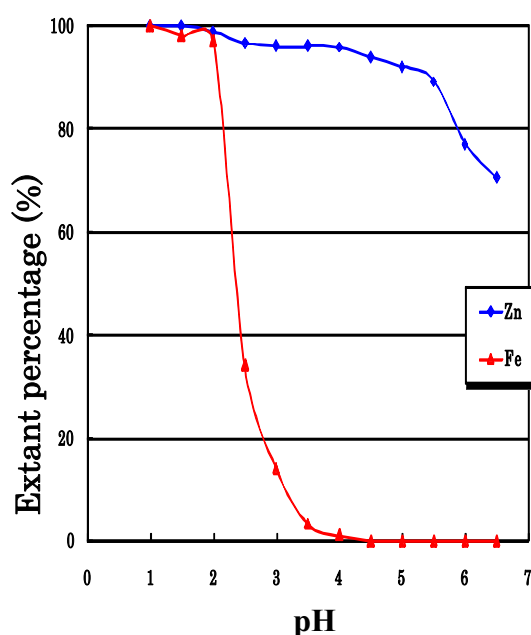


図9 dustBの硫酸浸出貴液をNaOHでpH調整したときの各元素の挙動

### 3. 成果の達成度

今年度は、電気炉ダストからの金属回収に成功したため、目標は十分達成できたと考えている。

### 4. 今年度の問題など

特になし。

### 5. 来年度の目的・目標

来年度は、亜鉛湿式製錬で発生する浄液滓からのコバルトの回収について検討し、一連の廃棄物からの金属回収と無害化に関する研究を行う予定である。

### 6. 平成17年度の研究費取得状況

なし

### 7. 平成17年度の研究発表、特許状況

#### (1) 原著論文による発表

##### ① 国内誌（和文）

1. 希硫酸浸出—溶媒抽出による混合メッキスラッジからの有価金属の分離：河原正泰、豊福秀徳、J of MMIJ、第123巻、第1号、45-49頁（2007）

##### ② 国際誌（欧文）

1. Effect of Dense Layer Formation on Dissolution Rate of MgO-C Refractory in Molten Slag : Hiroyuki SUNAYAMA and Masayasu KAWAHARA, Advances in Science and Technology, Vol. 45, pp. 162-165 (2006)
2. Oxidation Rate of Magnesite-Carbon Refractory with Aluminum Additive Hiroyuki SUNAYAMA and Masayasu KAWAHARA, Materials Science Forum, Vol. 522, pp. 603-607 (2006)

#### (2) 原著論文以外による発表

なし

#### (3) 口頭発表

1. Mg-Zn-Y 合金の真空蒸留によるリサイクルとYの回収：河原正泰、第18回高性能Mg合金創成加工研究会「マグネシウム合金の耐食性とリサイクル」、pp. 35-37 (2006) 他

## 平成 18 年度 拠点 B 国際シンポジウム報告

### 目的

有明海や八代海等の内湾性海域における富栄養化原因の一つとして、周辺陸域からの地下水を經由とした環境物質負荷の経路が世界的に注目されるようになってきている。H18 年度の拠点 B 国際シンポジウムでは海岸及び海底下における地下水の実態とそれらを把握するための各種手法、および栄養塩負荷の実態に関して、国内外の専門家による密度の濃い討議を行うことを目的として実施した。招聘予定者の大半は、拠点（B）のメンバー教官である嶋田の科研費基盤（A）（H17 終了）の構成メンバーであった国内関連大学の研究者および海外の関連研究者であり、これに加えて小池教授およびその関連国外研究者を合わせて開催した。

### プログラム

熊本大学拠点形成グループ（B）『水環境汚染物質の動態評価研究』・国際シンポジウム

『陸水—海水インターラクション領域の実態と地下水を經由した海域への環境負荷』

*International Symposium on* **“Interrelations between seawater and groundwater in the coastal zone and their effect on the environmental nutrient load toward the sea”**

日時：平成 18 年 12 月 22 日（金） 10 時～17 時

場所：熊本大学工学部 100 周年記念館（熊本市黒髪 2-39-1 熊本大学黒髪南キャンパス）

主催：熊本大学、熊本大学拠点形成グループ（B）『水環境汚染物質の動態評価研究』

共催：熊本大学大学院『魅力ある大学院イニシアティブ』特別教育プログラム

後援：日本地下水学会、日本水文科学会、日本応用地質学会九州支部（九州応用地質学会）

参加費：無料

09 : 40–10 : 00 受付、参加登録

10 : 00 開会の辞 安部真一 (*Prof. S. Abe*, 熊本大学教授・拠点グループ代表)

10 : 05 歓迎の言葉 西山忠男 (*Vice President, Prof. T. Nishiyama*, 熊本大学・副学長)

《セッション1》(司会：小池克明, *Prof. K. Koike*)

10 : 10–10 : 50 Importance of the Submarine Groundwater discharge (SGD) and the evaluation of the SGD evident by using Natural Rn content (海底地下水湧出現象の重要性とラドンを用いた湧水現象の評価) (*keynote speaker*) フロリダ州立大学 *Prof. W. Burnett*

10 : 50–11 : 20 Submarine groundwater discharge in Japanese coastal area (我が国における海底地下水湧水現象の実態把握) 総合地球環境学研究所 助教授 谷口真人

11 : 20–11 : 50 Regional groundwater flow system study in the pyroclastic aquifer including SGD (火山岩系流域における広域地下水流動と海底地下水湧出の定量的評価) 熊本大学 教授 嶋田 純

昼食 (12 : 00–13 : 30) ポスター発表①

《セッション2》(司会：谷口真人, *Prof. M. Taniguchi*)

13 : 30–14 : 00 Evidence and the flow regime of the submarine fresh groundwater in the Yatsushiro bay, Japan (海底下の淡水性地下水挙動の実態) 東京大学 助教授 徳永朋祥

14 : 00–14 : 30 Nutrient load through SGD to the Seto inland sea—case study at a small granite island—(瀬戸内海小島における海底地下水経由の海域への栄養塩負荷の実態) 広島大学 助教授 小野寺真一

14 : 30–15 : 10 Environmental and Ecological Consequences of Submarine Groundwater Discharge (SGD) in the Coastal Ocean (韓半島沿岸域における海底湧出現象の環境生態学的評価) (*Invited foreign speaker*) ソウル大学 *Ass. Prof. G. Kim*

Coffee break (15:10~15:25) ポスター発表②

《セッション3》(司会:徳永朋祥, *Prof. T. Tokunaga*)

15:25-16:05 Modeling of Suspended Sediment Transport in Estuary of Mahakam, East Kalimantan - Indonesia (東ボルネオ、マハカム沿岸域における浮遊物質輸送モデル)

(*Invited foreign speaker*) バンドン工科大学 *Dr. Nining Sari*

Ningsih

16:05-16:35 Evaluation of Submarine groundwater discharge by using resistivity survey on the sea bottom floor of Ariake sea, Japan (有明海における比抵抗探査を用いた海底湧出現象の評価) 熊本大学 教授 小池克明

**Panel (Wrap-up) Discussion** (総合討議) (16:35-17:05) Moderator: *Prof. J. Shimada* (進行:嶋田 純)

17:10 閉会の辞 古川憲治 (*Prof. K. Furukawa* 熊本大学教授・拠点グループ副代表)

懇親会 18:30- 《楠会館》

### 参加状況

学内参加者:68名

学外参加者:35名(熊本県内:11名、県外:24名)

合計:104名

### SGD 国際シンポジウム決算

2006.12.27 嶋田 純

#### 入金

魅力ある大学院イニシアティブ経費(旅費・謝金) 110万円

同上(国際シンポジウム援助) 50万円

熊本コンベンションビューロー 10万円

合計170万円



## 支出

ポスター印刷（ホープ印刷）（10/2）	71,400円
Proceedings 印刷（ホープ印刷、200部）（12/20）	365,400円
横断幕・立て看板（ホープ印刷）（12/22）	62,000円
	小計498,800円
外国人旅費（Prof. Burnett）	401,295円
（Prof. Kim）	81,608円
（Dr.Nining）	171,034円
日本人旅費（概算）	220,000円
外国人講演謝金（@4万円） 3人	120,000円
日本人講演謝金（@2万円） 3人	60,000円
	小計1,053,937円
ポスター院生宿泊費（知命堂） @4600 3名	13,800円
同上（旅費補助）（京都、広島、博多）	55,000円
同上懇親会費（含む外国人懇親会費3名分）	25,134円
外国人昼食弁当代（3名、含むお茶代10名分）	4,100円
	小計98,034円
その他	49,229円
	合計700,000円

## 成果

本シンポジウムを通して、拠点 B で行われている研究の実態が学内に浸透すると共に、参加者および関連研究者間に地下水を媒介とした栄養塩の海域への負荷の共通概念が形成された結果、今後の共同研究の可能性が出てきた。また、この種の国際シンポジウムを学内で実施することで、関連研究室の学生・院生の研究・教育上のレベルアップに大きく貢献した。（嶋田 純）



(撮影：河原教授)

