

熊本大学平成 15 年度発足「拠点形成研究 B」

平成 19 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 20 年 3 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・准教授

(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・准教授
森村 茂・自然科学研究科・准教授

(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

・今年度は、高水温によるヒラメの雄化を誘導している可能性がある分泌性因子(コルチゾル)の同定に成功した。また、イモリ精巣の精原細胞内で発現する RNA 結合タンパク質が、第7世代精原細胞でのみ発現し、プロラクチンによって消失すること、抗アポトーシス活性を有していること、アポトーシスの促進に関与する *Pdcd4* と結合すること、を明らかにしたので、プロラクチンによるアポトーシス誘起機構について理解が深まった。また、イモリ生殖細胞の分化に対するビスフェノール A の影響について培養系を用いて調べた。これらの結果から、目標は十分達成できたと考えられる。

・*Ycf18* のアンモニアによる発現誘導が葉状体だけでなく糸状体においても確認できた。また、銅ストレスに対しても糸状体は葉状体と同様に色調変化を示すのに対し、窒素欠乏ストレスに対しては糸状体は耐性をもつことが明らかになった。このように、糸状体では葉状体とは異なるストレス応答をもつことが明らかになり、糸状体でのストレス応答特性を明らかにするという本年度の目標は十分達成されたと考えられる。

・ハマグリ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。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。

(B) 環境汚染物質のバイオ・レメディエーション

・平成18年度の研究成果を受けて、今年度は Anammox 反応の実排水への適用を視野に、実排水を処理対象に研究を進めた。実排水には、これまで使用してきた合成無機排水と違って、有機物や SS といった Anammox 反応を阻害する成分が含有され、実排水処理で問題となる。そこで、SS 含有量の多いバイオガスプラント脱離液を処理対象に、PEG で包括固定化した硝化ペレットを用いた部分亜硝酸化処理を行い、バイオガスプラント脱離液中のアンモニアの約半量を亜硝酸に酸化する部分亜硝酸化処理を、 $1.5\text{kg-N/m}^3/\text{day}$ の負荷域で流入水の有機物、SS 濃度の影響を受けることなく安定して行うことができた。続く Anammox 処理を、同じく PEG で包括固定化した Anammox ペレットを用いて行った。当初は、部分亜硝酸化処理水を希釈して試験したが、最終的に希釈することなく部分亜硝酸化処理水をそのまま Anammox ペレットを用いたリアクタに供給し、

5. $3\text{kg-N/m}^3/\text{day}$ という高い窒素負荷量で Anammox 処理が可能であることを認めた。本実験で用いた Anammox ペレットは PEG 系のゲルに Anammox 菌が包括固定されていることから、有機物や SS の影響を Anammox 菌が受け難くなっている。予想通りに、Anammox ペレットは有機物、SS の影響を受けることなく機能することを実排水処理で認めた。都市下水処理場の嫌気性消化脱離液を処理対象に、揺動床による部分亜硝酸化処理を行い、 $3.5\text{kg-N/m}^3/\text{day}$ の高い負荷域で、Anammox に適した部分亜硝酸化処理を達成できた。続く BX を担体とする Anammox 処理でも有機物や SS の影響を受けることなく Anammox 反応が起こることを認めた。

- 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。また、黒大豆煮汁醸造酢から単離された Compound-6 は黒大豆煮汁に特異的ではなく、米、芋や麦焼酎粕および焼酎粕から製造した醸造酢にも含まれていることがわかった。焼酎粕は焼酎の製造過程で大量に副生するものであり、以前は海洋投棄や焼却によって処分されていたが、焼酎粕から容易に有用物質を抽出する技術が確立されれば、優れたリサイクル方法になると考える。大豆煮汁醸造酢や各種焼酎粕中の Compound-6 含有量を調べたところ、それら 1 kg 中に 5~15 mg 程度しか含まれていなかった。Compound-6 は細胞培養系において、U937 細胞に対して $40\text{-}80\ \mu\text{g/ml}$ の濃度でアポトーシスを誘導するが、Compound-6 が生体において実際にどのくらいの効率で小腸から吸収され、ガン細胞に対してどのように作用するか、また、製造した黒大豆煮汁醸造酢の *in vivo* での実験結果にどのくらい寄与しているのかは、本研究のみでは全く不明である。また、世界の食品機能性研究においてヒト臨床試験、動物試験および細胞培養試験を明確に関連づけて説明した報告はないため、物質の性質と摂取量に対する小腸内での吸収における関連性の解明が望まれる。
- H18 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、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）が得られた。本年度は、さらに長期に渡る逐次回分実験を行って、K2F 株による高濃度の硝酸性窒素除去能を確認し、最終的に、生分解性プラスチックを炭素源とする連続脱窒リアクタを構築し、良好な結果とその有用性を明らかにすることができた。現在、これらの研究結果を論文にまとめ、本年度の成果は十分達成したものと考える。

(C) 沿岸域の水環境の評価

- わが国における CFC s 測定には、人為的な汚染が殆ど存在していないような地域における大気濃度の長期観測はなく、不知火流域における大気濃度測定値や福岡市における観測結果から、滞留時間推定には 1 年~10 年程度の誤差は在りうるものの、北半球平均値を我が国での CFC s 入力値として充分利用することができるものと判断された。

・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。

・3つのサブテーマともに平成18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。前年度の海底電気探査に加えて沿岸域電気探査という新たな計測方法についても有明海に適用でき、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19年度の目的・目標に関してほぼ達成できたと考える。今後さらにリモートセンシング、時空間分布モデリング、応用地球物理による水域・地圏環境の研究を発展させたい

(D) 微量環境汚染物質の定量

・平成19年度は、昨年度開発したスルホン酸とアミノメチルホスホン酸を有するキレート繊維(FNPS)がCu(II)などの2価イオンについては、空間速度7000 h⁻¹という高速通液条件下でも5%破過容量が約0.8 meq/gにも及ぶことを明らかにできた。線速度は4cm/sであり、これは溶液が1秒間に繊維床の長さの2.6倍進む流速である。従って、この繊維は2価金属イオンの高速濃縮への応用が有望である。FNPSのFe(III)の吸着性も評価したが、FNPSはFe(III)を迅速に吸着しなかったほか、In(III)、Ga(III)の吸着性もイミノ二酢酸とスルホン酸基を有する繊維(FCSIS)よりも吸着速度が遅い傾向が認められた。3価の金属イオンについてはFCSISが迅速な吸着速度を有することが判った。硝酸イオン吸着用の繊維FTEAならびにFBDAについては、本年度から研究を開始したが空間速度3000 h⁻¹まで、破過曲線形状が通液速度に依存しない結果が得られたので速度面では満足な成果を得ることができた。

・今年度は、銅製錬で発生するスラグからの重金属の溶出性、特にヒ素の溶出についての知見を得ることができたため、目的は十分に達成されたものと考えられる。

平成19年度博士後期課程学生数

	進学生	留学生	社会人
安部眞一	3	3	7
瀧尾 進	0	1	0
逸見泰久	2	0	1
古川憲治	0	4	1
木田健次	0	2	1
川越保徳	2	0	0
嶋田 純	3	1	0
滝川 清	0	0	4
小池克明	0	4	2
城 昭典	0	1	2
河原正泰	0	0	1
計	10	16	19

平成 19 年度の研究経費使用実績報告書

拠点 B 研究経費 (500 万円)

研究経費内訳	金額 (千円)	積算内訳 (千円)	
設備備品費	0		0
人件費	2,200	私費留学生補助 (修士 1, 博士 7 : (D 学生@200, M 学生@100) ホームページ作成補助 (@100)	2,200
共同研究	1,083	グループ間共同研究費支援費 研究課題 : 「比抵抗法による沿岸域断層中の塩 淡境界分布の高精度イメージング」, 「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」	1,083
旅費	46	プロジェクトゼミ講師旅費	46
事業推進費	163	国際シンポジウム開催補助費	163
その他	160	研究指導補助費	160
	900	院生の国際会議発表補助 (@9 * 100)	900
	198	液晶プロジェクター (1)	198
	250	報告書印刷代 (H 1 9 年度版, 最終報告版)	250
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

- ・ 基盤研究(B), 2006-2008年, 550万円(平成19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
- ・ 理研との共同研究費, 2007年度 350万円、生殖疾患モデル動物の開発

北野 健

- ・ 特定領域研究(公募研究), 2007-2009年, 330万円(平成19年度分), 温度依存性性決定の分子メカニズム
- ・ 若手研究B, 2007-2009年, 200万円(平成19年度分), メダカ性分化における細胞増殖因子の役割

滝尾 進

- ・ 基盤研究C 299万円(平成19年度分), レトロトランスポゾンによるスサビノリ分子育種法の開発

逸見 泰久

- ・ 科学研究費補助金基盤研究(C)(代表), 2007年度, 150万円, ハマグリ資源回復と持続的利用のための研究
- ・ 政策創造研究センター・プロジェクト研究(分担), 2007年, 160万円, 有明海・八代海の生物生息環境の評価・保全・再生

木田 健次

- ・ 受託研究(NEDO)、2007年、11,185,650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
- ・ 受託研究(崇城大学)、2007年、2,520,000円、平成19年度「新エネルギー技術開発プログラム／新エネルギー技術研究開発／新エネルギーベンチャー技術革新事業(バイオマス)／九州発ビレッジテクノロジー構築に向けた竹からのバイオエタノール変換の技術開発
- ・ 受託研究((株)りゅうせき)、2007年、7,692,541円、環境省 平成19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)
- ・ 科学技術振興調整費(熊本大学代表:滝川先生)、2007年、4,833,000円、底質機能の微生物学的評価と改善技術の検討

- ・ 科研費、2007年、1,950,000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
- ・ 共同研究（国立大学法人福島大学）、2007年、1,000,000円、水生植物残渣バイオマスからのアルコール発酵に関する技術開発研究
- ・ 共同研究（東京瓦斯（株））、2007年、3,000,000円、生ごみを主原料としたアルコール生産プロセス開発および、当該システムに有効なアルコール発酵酵母の育種に関する共同研究
- ・ 共同研究（（株）ミツカングループ本社）、2007年、1,500,000円、中国固体酢酸発酵における特徴的香气生成の微生物学的メカニズム解析

古川 憲治

<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 19 年度 2,595 万円、平成 18 年～20 年

<共同研究>

- ・ 関東ガス開発(株) 150 万円
- ・ 荏原環境エンジニアリング(株) 100 万円
- ・ (株)タクマ 100 万円

<奨学寄附金>

- ・ (株) クラレ、100 万円
- ・ オルガノ(株)、100 万円
- ・ (株)石垣、100 万円
- ・ Jeon Tech. Co. Ltd.（韓国） 100 万円
- ・ 日立プラント(株)、50 万円

川越 保徳

- ・ (財) 前田記念工学振興財団研究助成、2007 年、100 万円、太陽光集光システムと発光ダイオードを光源とする揮発性有機酸からの光合成水素生成に関する基礎的研究
- ・ 政策創造研究教育センタープロジェクト研究課題、2007 年～2009 年、180 万円、熊本流域での水循環保全とその健全な水利用に関する研究
- ・ 熊本市水道局、2007 年～2008 年、100 万円、熊本市水道水の『魅力』再発見事業

嶋田 純

- ・ 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
 - ・ 都城市受託研究費 2007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 2007年度共同研究、分担 4000千円、『都市の地下環境に残る人間活動の影響』
 - ・ 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 800千円
 - ・ 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** 1件 (1000千円)

小池 克明

- ・ 科学研究費 基盤研究 B (代表) : 2,000 千円 [継続]
- ・ 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
- ・ 寄附金 : 民間企業・(社)資源・素材学会より, 計 4,500 千円
- ・ 共同研究費 : 国立極地研・京都大学防災研 (分担) , 計 200 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 (19年度 106, 132千円).

② 奨学寄付金

- 5件 10, 008, 320 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」.

城 昭典

- ・三井金属鉱業株式会社との共同研究, 2007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

河原 正泰

- ・平成 19 年度科学研究費補助金 (基盤研究 (C)) 代表
「含希土マグネシウム合金スクラップからの希土類の回収」(3770 千円)

平成19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～19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。

H19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)遺伝子の発現が抑制される一方、MIS(Mullerian inhibiting substance)遺伝子の発現が誘導されることが分かっている(Kitano et al., 2000; Yoshinaga et al., 2004)。そこで今年度は、高水温ストレスにより合成量が上昇する分泌性因子に着目して、その影響を解析した。

我々は、秋～冬温度が低下するとイモリ血中のプロラクチンホルモンが上昇し、精巣にアポトーシスを引き起こすことを発見した(Yazawa et al., 2000)。そこで、イモリ精巣におけるアポトーシス機構について、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、について調べることを目的とする。今年度は、精原細胞内の抗アポトーシス因子であるRNA結合タンパク質(nRBP)の発現と作用について調べた。また、環境毒性物質の精子形成に対する影響について両生類精巣培養系を用いて調べた。

2. 平成19年度の研究成果

(1) 高水温飼育により、ヒラメ遺伝的雌(XX)が雄へと性転換する分子機構

ヒラメのXX個体は、性分化時期の高水温(27°C)飼育により、生殖腺での雌特異的遺伝子(アロマターゼ、*Foxl2*)の発現が抑制され、雄特異的遺伝子(*MIS*)の発現が誘導されて雄へと性分化することが明らかとなっている。昨年度、性分化時期の生殖腺の器官培養系において、18°Cで培養しても、27°Cで培養しても、アロマターゼ及び*Foxl2* mRNAの発現が完全には抑制されず、*MIS* mRNAの発現が全く誘導されないことが分かった。このことは、高水温は生殖腺には直接作用せずに、生殖腺以外から分泌する因子を介して雄への性分化を誘導しているのではないかと考えられた。そこで今年度は、高水温ストレスにより合成量が上昇する因子の一つであるコルチゾルに着目し、ヒラメ性分化におけるこの影響を解析した。EIA法によりコルチゾル量を測定した結果、性分化時期において、高水温処理したXX個体は通常処理個体に比べて、コルチゾル量が有意に高いことが分かった。次に、コルチゾルを投与したXX個体の性比を調べた結果、高濃度処理群において50%の雄化率を示した。さらに、生殖腺の器官培養系にコルチゾルを添加した結果、アロマターゼ及び*Foxl2* mRNAの発現が抑制され、*MIS* mRNAの発現が誘導された。これらのことから、コルチゾルは高水温によるヒラメの雄化に深く関与している可能性が示唆された。

(2) イモリ精巣でのプロラクチンによるアポトーシスにおけるRNA結合タンパク質の役割

イモリ精巣では、減数分裂開始かアポトーシスかの運命の岐路が第7世代精原細胞にあり、その運命決定は「生」のシグナルである濾胞刺激ホルモン(FSH)と「死」のシグナルであるプロラクチン(PRL)とのバランスによって調節されている(Abe, 2004)。すなわち、第7世代精原細胞はPRLの血中濃度が高くなる秋～冬ではアポトーシスを誘導するのに対して、PRLの血中濃度が低くなる春では増殖、分化を促進する。我々は、PRLに応答してmRNAの発現が減少するクローンの一つとしてRNA結合タンパク質(nRBP)をイモリ精巣由来の5321個のcDNAからマイクロアレイ法で単離した。一般に、RNA結合タンパク質はmRNAの翻訳、プロセッシングなどを制御することが知られている。nRBPタンパク質の発現を調べたところ、第7世代精原細胞の細胞質で発現していること、PRLの作用によってアポトーシスを起こしている細胞だけでなく起こしていない細胞でも減少していた。また、精巣の生殖細胞核とPRLを注射したイモリの精巣から調製した細胞質抽出液を反応させたところ、PRLによるアポトーシスが無細胞系でも誘導されることが分かった。この無細胞系にnRBPタンパク質を添加すると、アポトーシス

が抑制された。次に、nRBP がいかにアポトーシスを抑制するかを明らかにするために、nRBP に結合する programmed cell death protein 4 (Pcd4) の RNA を共免疫沈降によりイモリ精巣から単離した。Pcd4 はアポトーシスの促進に関与するもので、その mRNA の発現は PRL をイモリに注射して nRBP の発現がほぼ消失する 24 時間後に一過的に上昇していた。以上の結果は、nRBP が Pcd4 の mRNA に結合することで抗アポトーシス活性を発揮しているが、PRL による nRBP の発現低下が第 7 世代精原細胞にアポトーシスを誘導するという運命を決定付けていることを示唆した。

(3) イモリ生殖細胞の分化に対するビスフェノールAの影響

ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂の原料として国内でも年間 50 万トンが生産されているビスフェノール A (以下、BPA と略す) は、CD や給食用食器等の我々に身近な製品に用いられているが、ステロイドホルモンの一種であり、その受容体 (エストロゲン受容体) を介して特定の DNA の合成を活性化するエストロゲン様作用を示して甲状腺異常などを引き起こす事が知られている。

内分泌攪乱物質の生殖細胞分化に及ぼす影響を調べる目的で、水生動物で精子分化機構が詳しく調べられているイモリの精巣を用いて、BPA の影響を調べた。成熟雄より精巣を単離し BPA を 1ppm, 10ppm, 100ppm の濃度で添加して培養し、精原細胞への影響を調べた。その結果、1ppm ではほとんど影響は見られなかったが、10ppm 以上の濃度では、濃度依存的に死滅する精原細胞が増加した。100ppm では成熟した精細胞は影響を受けなかったが、セルトリ細胞を残してほとんどの精原細胞と精母細胞の核が消失した。これらの結果より、BPA は精原細胞と精母細胞に対して選択的に細胞毒性があること、セルトリ細胞は精原細胞と精母細胞に比べて影響を受けがたいことが明らかになった。(この実験は八代高専の梅本尚男君と金田照夫教授が行い、私が助言を与えた)

3. 成果の達成度

今年度は、高水温によるヒラメの雄化を誘導している可能性がある分泌性因子(コルチゾル)の同定に成功した。また、イモリ精巣で精原細胞内で発現するRNA結合タンパク質が、第 7 世代精原細胞でのみ発現し、プロラクチンによって消失すること、抗アポトーシス活性を有していること、アポトーシスの促進に関与するPcd4と結合すること、を明らかにしたので、プロラクチンによるアポトーシス誘起機構について理解が深まった。また、イモリ生殖細胞の分化に対するビスフェノールAの影響について培養系を用いて調べた。これらの結果から、目標は十分達成できたと考えられる。

4. 平成19年度の研究費取得状況

- (1) 基盤研究(B), 2006-2008年, 550万円(平成19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) 理研との共同研究費, 2007年度 350万円、生殖疾患モデル動物の開発
- (3) 特定領域研究(公募研究), 2007-2009年, 330万円(平成19年度分), 温度依存性性決定の分子メカニズム
- (4) 若手研究B, 2007-2009年, 200万円(平成19年度分), メダカ性分化における細胞増殖因子の役割

5. 平成19年度の研究発表、特許状況

(1) 原著論文による発表

国際誌(欧文)

- ① Shiraiishi E., Yoshinaga N., Miura T., Yokoi H., Wakamatsu Y., Abe S. and Kitano T. Mullerian inhibiting substance is required for germ cell proliferation during early gonadal differentiation in medaka (*Oryzias latipes*). **Endocrinology** 149, 1813-1819, 2008.
- ② Yazawa T., Uesaka M., Inaoka Y., Mizutani T., Sekiguchi T., Kajitani T., Kitano T., Umezawa A. and Miyamoto K. Cyp11b1 is induced in the murine gonad by luteinizing hormone/ human chorionic gonadotropin and involved in the production of 11-ketotestosterone, a major fish androgen; conservation and evolution of androgen metabolic pathway. **Endocrinology** (In press).
- ③ Shimada H., Yasutake A., Hirashima T., Takamure Y., Kitano T., Waalkes M.P. and Imamura Y. Strain difference of cadmium accumulation by liver slices of inbred Wistar-Imamichi and Fischer 344 rats. **Toxicology in Vitro** 22, 338-343, 2008.
- ④ Yamaguchi T., Yamaguchi S., Hirai T. and Kitano T. Follicle-stimulating hormone signaling and Foxl2 are involved in transcriptional regulation of aromatase gene during gonadal sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 359, 935-940, 2007.
- ⑤ Oba Y., Shimasaki Y., Oshima Y., Satone H., Kitano T., Nakao M., Kawabata S. and Honjo T. Purification and characterization of tributyltin binding protein type 2 from plasma of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **J. Biochemistry** 142, 229-238, 2007.
- ⑥ Hano T., Oshima Y., Kim S. G., Satone H., Oba Y., Kitano T., Inoue S., Shimasaki Y. and Honjo T. Tributyltin causes abnormal development in embryo of medaka, *Oryzias latipes*. **Chemosphere** 69, 927-933, 2007.
- ⑦ Kawasaki T., Imura, F., Nakada, A., Kubota, H., Sakamaki, K., Abe, S.-I. and Takamune, K. (2006) Functional demonstration of the ability of a primary spermatogonium as a stem cell by tracing a single cell destiny in *Xenopus laevis*. **Development Growth and Differentiation**, 48, 525-535.
- ⑧ Jin, Y., Uchida, I., Eto, K., Kitano, T. and Abe, S.-I. (2008) Size-selective junctional barrier and Ca²⁺-independent cell adhesion in the testis of *Cynops pyrrhogaster*: expression and function of occludin. **Molecular Reproduction and Development**, 75, 202-216.
- ⑨ Abe K., Eto K. and Abe S.-I. (2008) Epidermal growth factor mediates spermatogonial proliferation in newt testis. **Reprod. Biol. Endocr.** (in press).

(2) 原著論文以外による発表

著書

- ① Kitano T. and Abe S. Involvement of endocrine and environmental factors in gonadal sex differentiation in gonochoristic fish. In **Fish Reproduction**, pp 421-434, 2007.

- ② 安部眞一 第6章 脊椎動物の精子分化-イモリ精巣をモデルにして-、21世紀の動物科学。第4巻「性と生殖」(安部眞一、星元紀 編)。pp. 169-201 全 243 頁

(3) 学会発表

- ① Shiraishi E., Miura, T., Abe, S. and Kitano T.
Role of Mullerian inhibiting substance on gonadal sex differentiation in medaka (*Oryzias latipes*). 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish (St Malo, France), 3-8 June, 2007.
- ② Shirozu, T., Shiraishi E., Yoshinaga N., Kanamori A., Kubo Y., Hori H. and Kitano T.
The mechanism of transcriptional regulation of Mullerian inhibiting substance in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and medaka (*Oryzias latipes*). 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish (St Malo, France), 3-8 June, 2007.
- ③ Yamaguchi, T. and Kitano, T. The mechanism of transcriptional regulation of P450 aromatase gene by Foxl2 in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish (St Malo, France), 3-8 June, 2007
- ④ G.Mostafa,H.Ohgami,S.I.Abe and K.Takamune Xtr protein,One of the key Molecules for Progression of Meiotic Cycle in *Xenopus laevis*. 6th CONGRESS OF THE ASIA AND OCEANIA SOCIETY FOR COMPARATIVE ENDOCRINOLOGY, Dec. 10-14, Univ. of North Bengal, Siliguri, West Bengal, India
- ⑤ J.Zhang,S.Okuma,K.Eto and S.-I.Abe Neuregulins Promote Mouse Spermatogonial Proliferation and Expression of Meiosis-Specific Genes in Vitro. 6th CONGRESS OF THE ASIA AND OCEANIA SOCIETY FOR COMPARATIVE ENDOCRINOLOGY, Dec. 10-14, Univ. of North Bengal, Siliguri, West Bengal, India
- ⑥ O.Oral,I.Uchida,K.Eto,H.Tarui,K.Agata,N.Araki,S-I.Abe Signaling Mechanism of Neuregulin1-dependent proliferation in Newt (*Cynops pyrrhogaster*) Spermatogonia. 6th CONGRESS OF THE ASIA AND OCEANIA SOCIETY FOR COMPARATIVE ENDOCRINOLOGY, Dec. 10-14, Univ. of North Bengal, Siliguri, West Bengal, India
- ⑦ K.Eto,K.Eda,M.Hayano,T.Kawasaki,H.Kasimura,K.Nagao,I.Toyooka,A.Utoguchi,H.Tarui, O.Nishimura,K.Agata, and S.-I.Abe Transcriptional repression of a conserved RNA binding protein by prolactin leads to apoptosis in newt spermatogonia. 6th CONGRESS OF THE ASIA AND OCEANIA SOCIETY FOR COMPARATIVE ENDOCRINOLOGY, Dec. 10-14, Univ. of North Bengal, Siliguri, West Bengal, India
- ⑧ 張継東、大隈聖子、江頭恒、安部眞一 Neuregulins はマウス器官培養において減数分裂の開始を促進する。第40回日本発生生物学会(福岡)
- ⑨ Ko Eto, Kazufumi Eda, Motoshi Hayano, Toshihiro Kawasaki, Issei Toyooka, Ai Utoguchi, Shin-ichi Abe Protective role of a conserved RNA binding protein in spermatogonial apoptosis induced by prolactin during newt spermatogenesis. 第40回日本発生生物学会(福岡)
- ⑩ 安部眞一、江頭恒 イモリ精原細胞における減数分裂開始かアポトーシスかの運命決定。第78回日本動物学会(弘前)シンポジウム招待講演
- ⑪ 安部恵祐、安部眞一、江頭恒 イモリ精巣器官培養における EGF の精原細胞増殖促進効果。第78回日本動物学会(弘前)
- ⑫ 深浦一幸、江頭恒、安部眞一 イモリ精原細胞のアポトーシスにおける HSP90 との結合タンパク質の単離、同定。第32回日本比較内分泌学会(日光)
- ⑬ 梅本尚男、安部眞一、金田照夫「イモリ生殖細胞の分化に及ぼすビスフェノールAの影響」第13回 高専シンポジウム(久留米)講演要旨集 p28、2008.1.26

平成 19 年度研究成果報告

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。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

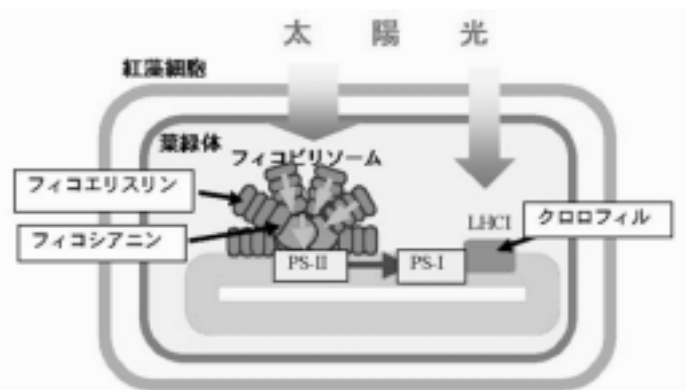


図1 紅藻のアンテナ装置

フィコビルリン類を含むため (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。

H19年度の目的・目標

Ycf18遺伝子はラン藻における栄養欠乏による色落ちを制御する遺伝子Nb1Aと遺伝子配列に相性がみられることから、研究当初からその発現様式を調べてきた。ラン藻Nb1Aが通常の栄養状態では発現が抑制され、栄養欠乏で発現が誘導されるのに対し、スサビノリYcf18は窒素欠乏では誘導されず、窒素源をアンモニアに切り換えることにより発現誘導されることが昨年度の研究により明らかになった。

スサビノリは、食用として利用されている半数体世代では葉状体として岩などの基物に付着して成長しているが、倍数体世代では糸状体となり貝殻内に浸入し成長する。生理生化学的研究においては、おもに葉状体を用いられており、糸状体の生理的性質については不明な点が多い。本研究においても、スサビノリ環境モニタリングへの利用を目的として葉状体を用いて研究を進めてきた。Ycf18のアンモニアによる発現誘導も葉状体を用いて明らかになった。本年度は、葉状体とは全く異なる環境で育成する糸状体の生理特性を明らかにする目的として、栄養欠乏による色調変化や各種ストレス下におけるフィコビルリン遺伝子とYcf18遺伝子の発現応答について調べた。

2. 平成19年度の研究成果

① 糸状体の窒素欠乏によるフィコビリソーム分解能

昨年までの研究によると、葉状体は窒素欠乏条件下では光合成色素量やフィコビルン遺伝子（フィコエリスリンCpeやフィコシアニンCpcなど）の発現量が1週間以内に通常の約20%以下に減少することが明らかになっている。一方、糸状体では窒素欠乏においても顕著な退色はみられなかった（図1A）。糸状体の窒素欠乏下でのフィコビルン遺伝子の発現量を調べたところ、調べた期間内では顕著な変化は見られなかった（図1B）。昨年までの研究から、葉状体においてはYcf18の発現は窒素欠乏により誘導されなかった。糸状体においても葉状体と同様に、窒素欠乏によってはYcf18の発現は誘導されなかった。

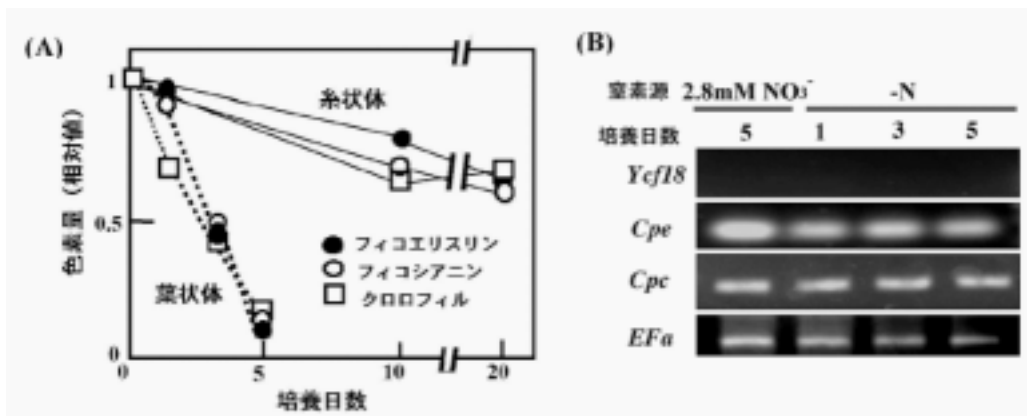


図.1 無窒素培養に伴う光合成色素量 (A) と葉緑体関連遺伝子の発現量 (B) の変化

(A) 通常の培養液で継代培養された葉状体および糸状体を無窒素培地に移し培養を行い、乾燥重量あたりの各色素量を測定した。(B) 糸状体を通常の硝酸塩培地から無窒素培地に移し、各日数で全 RNA を抽出し、ランダムプライマーにより cDNA を合成し、Ycf18、フィコエリスリン (Cpe)、フィコシアニン (Cpc) および翻訳伸長因子 (EFa) の各遺伝子用プライマーにより PCR を行った。

② 糸状体の銅ストレスに対する応答

葉状体に比べ糸状体は、窒素欠乏下におけるフィコビリソーム分解能が著しく低いことが明らかになった。その他のストレスに対する応答として銅過剰添加 (100 μ M 硫酸銅) による重金属ストレスについて調べた (図2)。窒素欠乏とは異なり、糸状体は葉状体と同様に銅ストレスに対して素早く応答することが明らかになった。

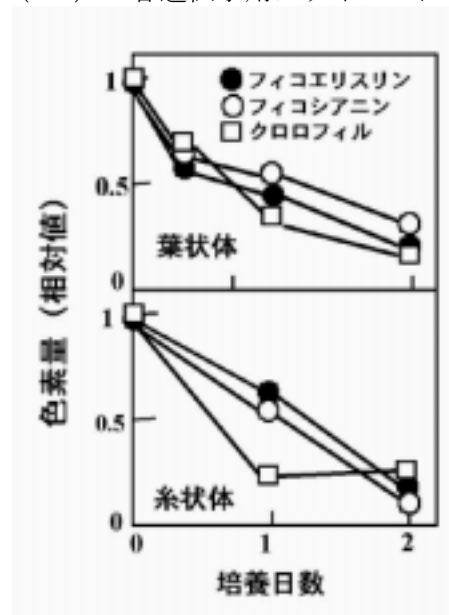


図2 過剰銅添加による退色

③ Ycf18 遺伝子のアンモニアによる発現誘導

糸状体におけるアンモニア培養の影響を遺伝子発現および色素合成について調べた (図 3 A)。硝酸塩を唯一の窒素源とする通常培地では Ycf18 の発現は著しく低いが、窒素源をアンモニアに切り換えると Ycf18 の発現が誘導された。一方、フィコエリスリンやフィコシアニン遺伝子の発現量は顕著な変化はみられず、また、光合成色素量も変化がみられなかった。Ycf18 の発現に有効なアンモニウム濃度は 5mM であった (図 3 B)。アンモニウム 10mM では成長阻害が見られた。

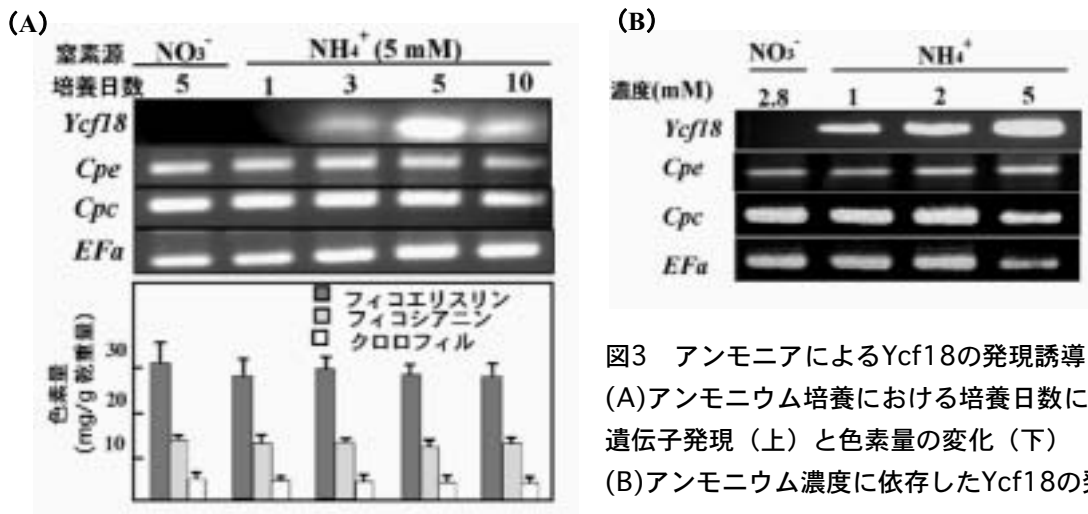


図3 アンモニアによるYcf18の発現誘導 (A)アンモニウム培養における培養日数に伴う遺伝子発現 (上) と色素量の変化 (下) (B)アンモニウム濃度に依存したYcf18の発現

④ 糸状体および葉状体のアンモニア同化系酵素遺伝子の発現レベル

Ycf18 の発現がアンモニアにより誘導されることが、糸状体でも確認された。この現象とアンモニア同化系との関連について明らかにする必要があると考えられた。アンモニア同化系酵素やその調節機構については、被子植物や一部の緑藻では研究が進んでいるが、スサビノリを含む大型海藻ではほとんど研究されていない。全塩基配列が決定されているスサビノリ葉緑体ゲノムには窒素代謝系酵素遺伝子としてグルタミン生成酵素 (GOGAT) が一つコードされていた。また、スサビノリ EST データベースにはグルタミン合成酵素 (GS) とグルタミン酸脱水素酵素 (GDH) のコンティグが各一種類見出せた。これらの遺伝子の発現を調べたところ、GDH の発現レベルは低く、アンモニアによっても発現は変化しなかった (図 4)。一方、

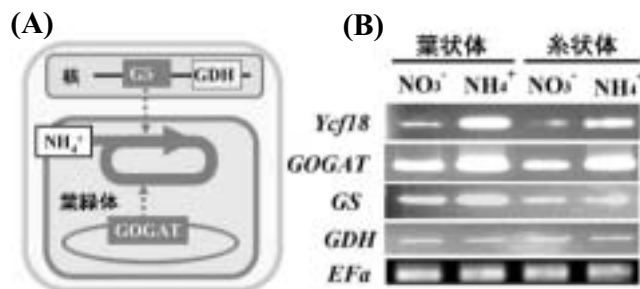


図4 アンモニア同化系遺伝子の発現レベル (A)アンモニア同化系の模式図 (B)硝酸塩およびアンモニウム塩培養におけるアンモニア同化系遺伝子の発現量

GS と GOGAT の発現量は高く、GOGAT はアンモニアにより発現が増大した。これらの結果から、アンモニア培地におけるアンモニア同化の主要な経路は GS/GOGAT 回路であると推定された。高等植物では、GS には細胞質局在と葉緑体局在の 2 種のイソ酵素が存在し、GOGAT では助酵素として還元型フェレドキシンと NADPH を利用する 2 種のイソ酵素が存在することが知られている。スサビノリにおいて、アンモニアにより増大した GOGAT や GS 遺伝子の発現が硝酸培養とは異なるイソ酵素遺伝子に由来する可能性が残されている。アンモニア培養における PCR 産物のシーケンスによりこの問題を検討する必要がある。

3. 成果の達成度

Ycf18 のアンモニアによる発現誘導が葉状体だけでなく糸状体においても確認できた。また、銅ストレスに対しても糸状体は葉状体と同様に色調変化を示すのに対し、窒素欠乏ストレスに対しては糸状体は耐性をもつことが明らかになった。このように、糸状体では葉状体とは異なるストレス応答をもつことが明らかになり、糸状体でのストレス応答特性を明らかにするという本年度の目標は十分達成されたと考えられる。

4. 今年度の問題など

特になし。

5. 来年度の目的・目標

高等植物では、GOGAT の基質である 2-オキソグルタル酸は TCA 回路から供給されることから、2-オキソグルタル酸の細胞内濃度によって窒素代謝系と炭素代謝系が制御されている。紅藻類においてはそれらの制御機構は不明である。まず、GS/GOGAT 回路の阻害剤や 2-オキソグルタル酸などのアンモニア同化系に関与するアミノ酸の添加効果を調べ、アンモニア同化系の制御様式を明らかにする必要がある。この研究により、Ycf18 の誘導がアンモニアにより直接制御されているのか、アンモニア同化系の代謝産物により制御されているのかが明らかになると考えられる。

研究当初は Ycf18 が栄養欠乏による色調変化（ノリの色落ち）を制御するマスター遺伝子と推定していたが、現時点では、色調変化とは関連しない可能性が高くなった。しかし、昨年、ラン藻の窒素欠乏による色落ちを制御する遺伝子としてアラニン脱水素酵素が同定された。同遺伝子を破壊すると、窒素欠乏下でも退色が見られなくなる。今のところ、窒素欠乏におけるフィコビリソーム分解に同酵素がどのように関与しているかは全く不明である。しかし、同酵素は反応産物としてアンモニアを生成することから、窒素欠乏によるフィコビリソーム分解過程において窒素の再利用のためにアンモニア同化系が活性化される可能性が考えられる。Ycf18 がアンモニアにより誘導される現象はこの点で興味深く、Ycf18 がフィコビリソームの合成・分解に間接的に関与する可能性は残されていると考えられる。

Ycf18 の葉緑体内での局在部位もその機能を考える上で重要な問題である。近年、ラン藻 Nb1A はフィコシアニンタンパクと結合することが示されている。一方、高等植物では、葉緑体内におけるアンモニア同化系酵素はすべて可溶性成分であるストロマに局在していることが知られている。以前の研究ではスサビノリ Ycf18 はチラコイド膜に結合しているという結果が得られていた。しかし、この時に使用した材料は通常条件で培養された葉状体であった。今後はアンモニア培養の材料を用いて Ycf18 の葉緑体内での局在部位を明らかにする必要がある。

6. 平成16年度の研究費取得状況

- (1) 基盤研究C 299万円(平成19年度分)、レトロトランスポゾンによるスサビノリ分子育種法の開発

7. 平成19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. Zhang, W., Lin, X., Suresh, P., Tackechi, K., Takano, H. and Takio, S. Characterization of short interspersed elements (SINEs) in a red alga, *Porphyra yezoensis*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71, 618–622, 2007.
2. Nozaki, H., Takano, T., Misumi, O., Terasawa, K., Matuzaki, M., Maruyama, S., Nishida, K., Yagisawa, F., Yoshida, Y., Fujiwara, T., Takio, S., Tamura, K., Chung, S. J., Nakamura, S., Kuroiwa, H., Tanaka, K., Sato, N. and Kuroiwa, T. A 100%-complete sequence reveals unusually simple genomic features in the hot-spring red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *BMC Biology*, 5, 28, 2007.
3. Sekmen, A. H., Turkan, I. and Takio, S. Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiologia Plantarum*, 131, 399–411, 2007.

(2) 原著論文以外による発表

なし

(3) 口頭発表

1. 武智克彰、保見祥子、高橋良子、佐藤博、滝尾進、高野博嘉。ヒメツリガネゴケ葉緑体におけるペプチドグリカン合成系と葉緑体分裂。第57回日本植物学会九州支部大会。2007年5月19–20日。
2. 東佑弥、武智克彰、高野博嘉、滝尾進。ヒメツリガネゴケ巨大葉緑体株のストレス防御能の解析。第57回日本植物学会九州支部大会。2007年5月19–20日。
3. Takio, S., Zhang, W., Peddigari, S., Takechi, K. and Takano, H. Retrotransposon-related sequences in a red alga, *Porphyra yezoensis*. Workshop: Recent progress in marine biology and biotechnology in Korea and Japan. 第10回日本マリンバイオテクノロジー学会。2007年5月26–27日。
4. 東佑弥、武智克彰、高野博嘉、滝尾進、ヒメツリガネゴケ巨大葉緑体株のストレス防御能の解析。日本植物学会第71回大会。2007年9月6–9日。
5. 武智克彰、保見祥子、高橋良子、佐藤博、滝尾進、高野博嘉。ヒメツリガネゴケ葉緑体分裂に關与するペプチドグリカン合成系 Ppbp の機能解析。日本植物学会第71回大会。2007年9月6–9日。
6. 鍋島一真, Marlon Garcia, 明賀史純, 武智克彰、佐藤博、永田典子、滝尾進、篠崎一雄、高野博嘉。葉緑体形成不全を示すシロイヌナズナ MurE 変異体の色素体構造。日本植物学会第71回大会。2007年9月6–9日。

平成 19 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。

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ている。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、効率的な窒素除去法を開発することを目的として研究を行う。

<平成 19 年度における目的・目標>

平成 18 年度までに得られた Anammox 汚泥の集積や部分亜硝酸化処理に関する研究室での研究成果を基にして、平成 19 年度は次の目的・目標で研究を行う。

- 1) バイオガスプラント脱離液を処理対象とする（部分亜硝酸化+Anammox）処理のベンチスケール試験を行い、BOD、SS 濃度の高い排水への Anammox 反応の適用の可能性を明らかにする。
- 2) 都市下水処理場の嫌気性消化脱離液を処理対象排水とするベンチスケール

試験を行い、Anammox 反応の適用の可能性を明らかにする。

2. 研究方法

- 1) バイオガスプラント脱離液の部分亜硝酸化処理をポリエチレングリコール (PEG) で包括固定化した硝化ペレットを用いて行う。
- 2) 硝化ペレットによる部分亜硝酸化処理水を、グラニュール状の Anammox 汚泥を活用する Anammox リアクタで処理し、その処理能力を明らかにする。
- 3) 都市下水処理場の嫌気性消化脱離液を処理対象排水として、バイオフィンジ (BF) を活用する揺動床で部分亜硝酸化処理する。得られた部分亜硝酸化処理水を、網目状のアクリル製担体 (バイオフィックス:BX) を担体とする容量 18.8L の Anammox リアクタで処理し、その処理能力を明らかにする。

3. 研究成果

1) 前年度までの主な成果

- ① 50L 容の Anammox リアクタの迅速立上げ試験を行い、80 日で T-N 容積除去速度 $1.0\text{kg-N/m}^3/\text{d}$ を、250 日後に $3.26\text{kg-N/m}^3/\text{d}$ を達成することができた。
- ② PVA ゲルビーズを担体とする Anammox リアクタの構築に成功し、T-N 容積除去速度 $2.88\text{kg-N/m}^3/\text{d}$ を達成できた。
- ③ Anammox の担体として、モルトセラミックス、ポリエチレンスポンジも活用できることが連続処理試験で確認できた。
- ④ 一槽式のアンモニア除去法 SNAP の長期的な処理の安定性を、合成埋立地浸出水を使った連続試験で検討し、T-N 容積除去速度 $0.8\text{kg-N/m}^3/\text{d}$ を安定して維持できることを明らかにした。

2) 当該年度で得られた成果

- ① PEG で包括固定化した硝化ペレットを活用するバイオガスプラント脱離液の部分亜硝酸化処理

図 1 に示す容積 8L のアクリル製カラムリアクタを用いて行った。供試担体として硝化汚泥を包括固定した硝化ペレットを 20% 充填した。約 100rpm の攪拌速度で攪拌し、エアポンプで間欠曝気を行い、担体と流入水を混合させた。DO を $1.5\sim 5.0\text{mg/L}$ の範囲でコントロールすることにより、間欠曝気を行った。窒素負荷量を上昇させるにつれて、設定 DO 濃度を上昇させた。pH は pH コントローラを用いて $7.0\sim 8.0$ に設定し、処理温度はウォータージャケットを用いて 30°C に維持した。pH 調整液には NaHCO_3 (42g/L) と HCl (2N) を使用した。供試廃水は窒素負荷量に合わせて水道水で希釈し、流入水とした。また、発泡現象が生じた場合は、消泡剤 (信越シリコーン KM72) を適宜投入した。無希釈原水の

流入水を用い始めてからは、流入水中の SS 濃度が 2000~3000mg/L と高まったために、散気管の目詰まりに注意し、目詰まりした際には適宜交換した。

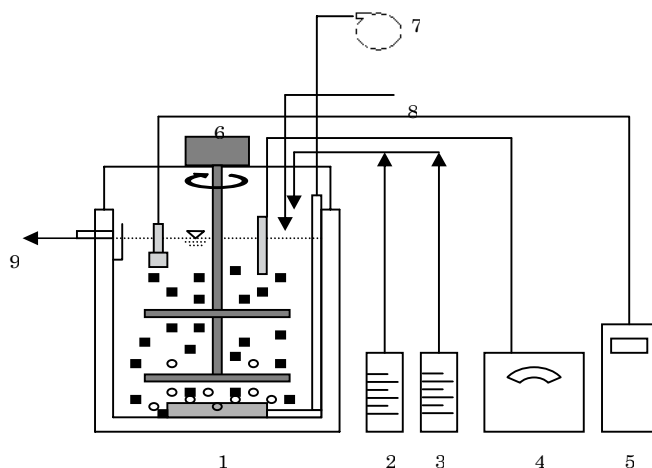


図1 実験装置図

- (1) Water jacket (2) HCl solution (3) NaHCO₃ solution (4) pH controller
 (5) DO controller (6) Stirrer (7) Air pump (8) Influent (9) Effluent

図2に各態窒素濃度及び窒素負荷量の経時変化を示す。窒素負荷量 0.5kg-N/m³/day、原液希釈倍率5倍で実験を開始した直後から徐々にNH₄⁺-Nが減少し始めると同時にNO₂⁻-Nが増加し、流入のNH₄⁺-Nのほぼ全量がNO₂⁻-Nに酸化された。そのため負荷量を1.0kg-N/m³/dayに高めたところ、処理水のNH₄⁺-N・NO₂⁻-N比が約1:1になった。その後、1.5kg-N/m³/dayに上昇させるまで、部分亜硝酸化処理は達成された。負荷量1.8kg-N/m³/day期間の120日目付近でのNH₄⁺-Nの残留は散気管の目詰まりとDOメータのトラブルと、曝気不足で硝化反応が起こらなかったためである。この期間のNH₄⁺-N・NO₂⁻-N比は平均で1:0.6であった。その後、無希釈の原水を流入に用い始めた直後は処理が安定しなかったが、NH₄⁺-N・NO₂⁻-N比が1:1から1:1.4の範囲で部分亜硝酸化が達成された。全期間において処理水中のNO₃⁻-N濃度は50mg-N/L以下であり、NO₂⁻-NからNO₃⁻-Nへの酸化は抑制されていた。

図3に遊離アンモニア(NH₃)濃度の経日変化を示す。Anthonisenらは、NH₃濃度0.1~10mg/Lで亜硝酸酸化細菌が選択的に阻害を受けると報告している。遊離NH₃濃度は(1)式で求めた。遊離NH₃濃度が常に0.4mg/L以上であったことから、亜硝酸酸化細菌は遊離NH₃による阻害を受け、NO₂⁻-NからNO₃⁻-Nへの酸化の抑制につながったと考えられる。

$$\text{Free NH}_3(\text{mg/L}) = \frac{17}{14} \times \frac{\text{total ammonia}(\text{mg-N/L}) \times 10^{\text{pH}}}{e^{(6344/(237+T))} \times 10^{\text{pH}}} \quad (1)$$

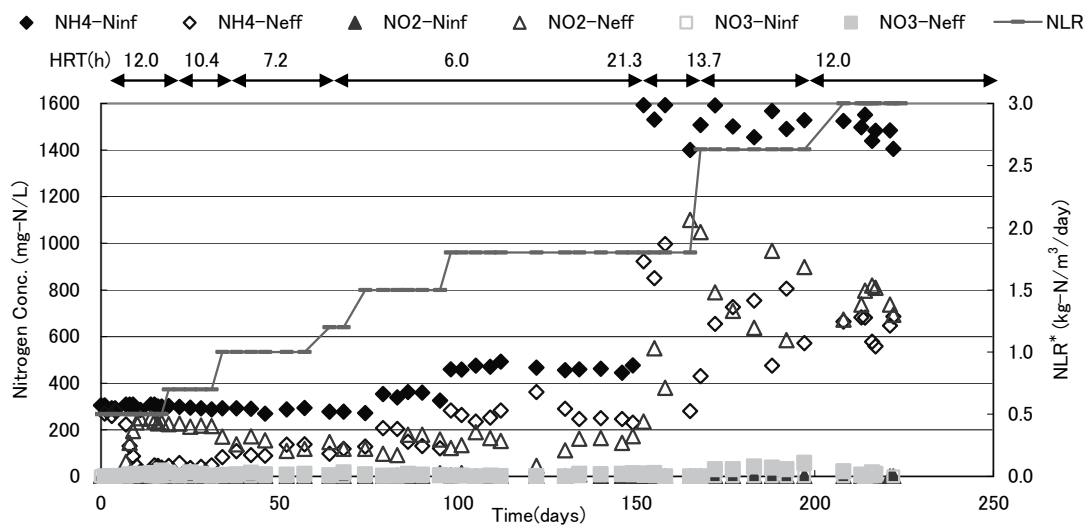


図2 各態窒素濃度と窒素負荷量の経日変化

*NLR: 窒素負荷量

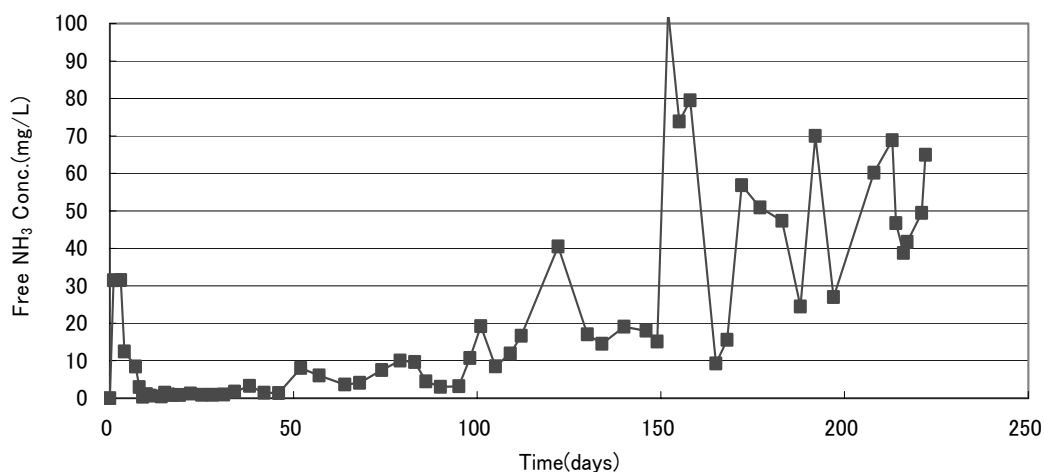


図3 遊離アンモニア濃度の経時変化

② PEGで包括固定化したAnammoxペレットを活用する部分亜硝酸化処理したバイオガスプラント脱離液の窒素除去

図4に示す容積1Lのガラス製リアクタを用いて行った。PEGで包括固定したAnammoxペレットを30%充填した。約100rpmで攪拌し、担体と流入水を混合させた。pHはpHコントローラを用いて7.8以下に設定し、水温は30°Cに保った。pH調整液にはHCl(0.2N)を使用した。供試廃水は部分亜硝酸化処理水を窒素負荷量に合わせて水道水で希釈し、流入水とした。流入水のDOが0.5mg/L以下になるようにN₂で脱酸素処理を行った。

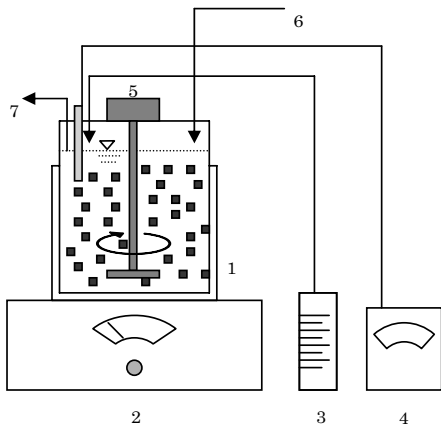


図4 実験装置図

- (1) Water jacket (2) Magnetic stirrer
 (3) HCl solution (4) pH controller
 (5) Stirring bar (6) Influent (7) Effluent

図5に各態窒素濃度の経日変化を示す。実験全体を通して、窒素負荷量は $5.3 \text{ kg-N/m}^3/\text{day}$ に設定した。流入水の $\text{NH}_4^+\text{-N}:\text{NO}_2^-\text{-N}$ 比は約 1:1.3 である。リアクタの立ち上げ時には合成無機培地を用いた。立ち上げ直後から良好な処理が見られたので、部分亜硝酸化処理水を希釈倍率 3.3 倍で供給した。希釈には水道水を用い、無機炭素源として KHCO_3 を $100 \text{ mg-HCO}_3^-/\text{L}$ 投入した。安定した処理が行われていることを確認しながら、供試廃水の希釈倍率を下げ、最終的に無希釈水を用いた。全体を通して、有機物やSSの影響をあまり受けず、安定した処理が行われた。本実験で用いた担体はPEG系のゲルにAnammox菌が包括固定されており、有機物やSSの影響をAnammox菌が受けにくくなり、処理効率は低下しなかった。

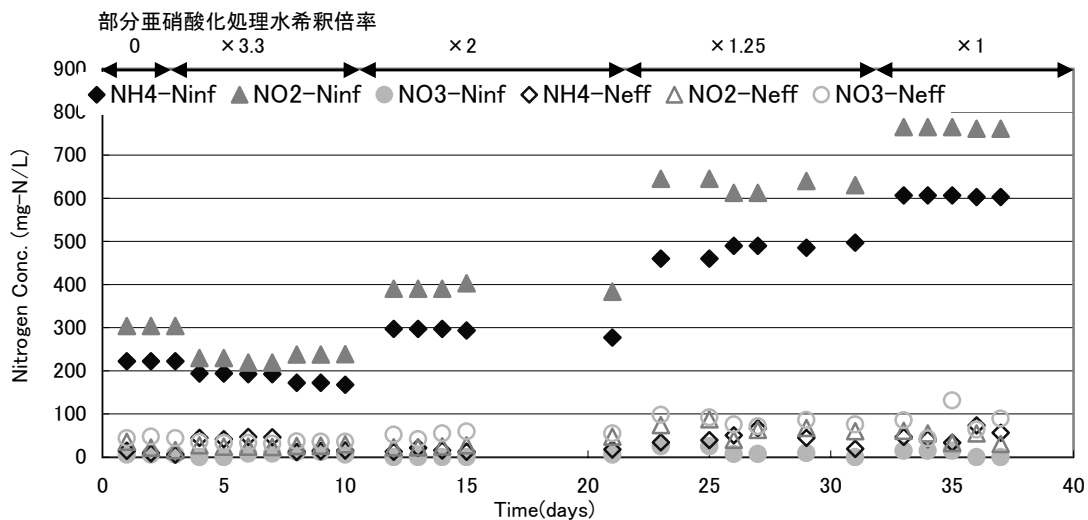


図5 各態窒素濃度の経時変化

写真1、2に実験前後の担体の変化状況を示す。供試廃水に含まれる色素成分によりAnammox担体が部分亜硝酸化担体と同様に黒く変色した。しかし、安

定した Anammox 処理が行われたことから、影響はなかったと考えられる。

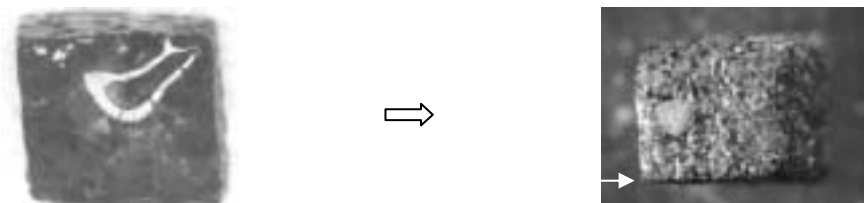


写真1 実験前の Anammox 処理担体

写真2 30 日後の Anammox 処理担体

③ 下水処理場の嫌気性消化脱離液を処理対象排水とする部分亜硝酸化—Anammox 処理

部分亜硝酸化リアクタ（容積：10.8L）には、アクリル繊維性のバイオフィンジ（BF、NET(株)製）を使用し、Anammox リアクタ（容積：18.8L）には、網目状のアクリル繊維性のバイオフィクス（BX、NET(株)製）を使用した。Anammox リアクタは、冬場はリアクタ内水温を 25℃に設定したが、夏場は温度制御なしで運転した。実験装置の模式図を図6に示す。

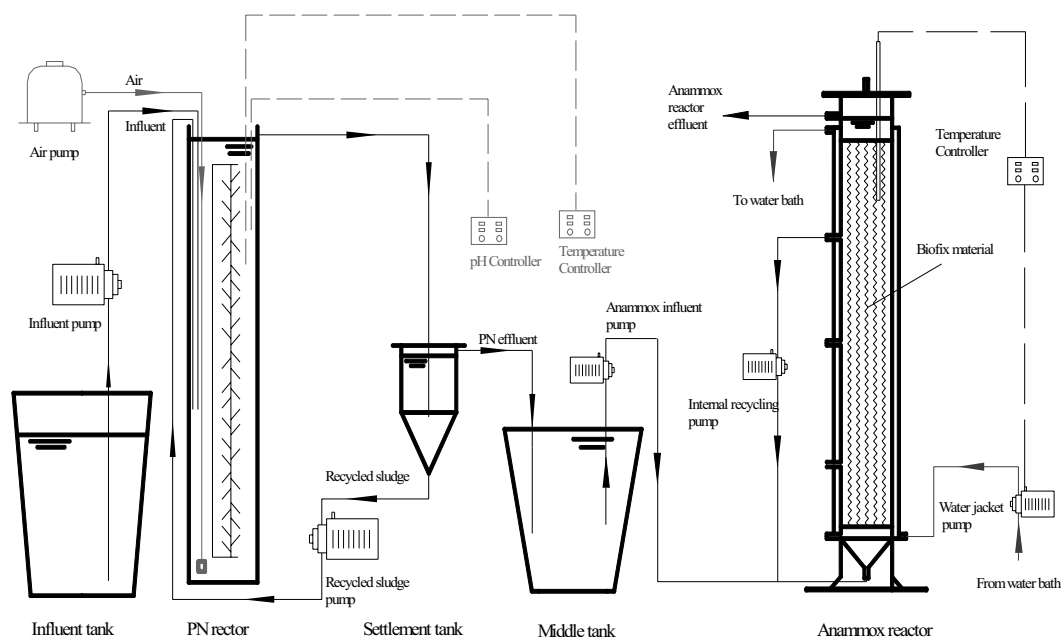


図6 実験装置の模式図

部分亜硝酸化リアクタの種汚泥は、研究室で fill and draw 法にて合成下水で長期間培養している硝化活性汚泥を MLSS 濃度 3,000mg/L として投入し、BF に付着させた。Anammox リアクタには、研究室で人工無機培地を用いて長期間培養している Anammox 汚泥を、MLSS 濃度 25,000mg/L となるようリアクタ内に投入し

た。1 日間窒素循環曝気して、Anammox 汚泥を BX に付着させた。供試廃水である嫌気性消化脱離液は、熊本市の東部浄化センターの嫌気性消化槽からの流出水を遠心分離したものを使用した。

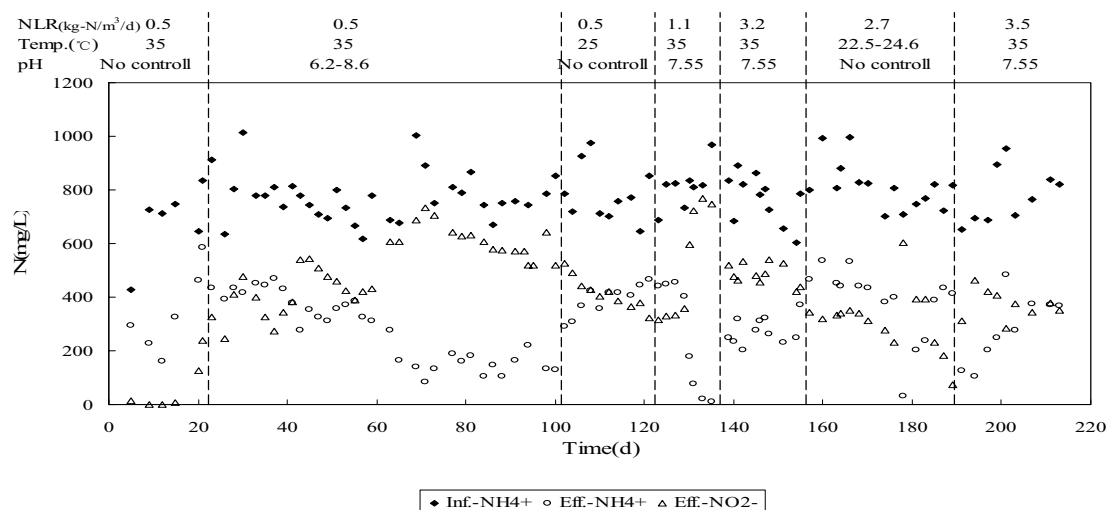


図7 部分亜硝酸化処理の各態窒素濃度の経日変化

図7に部分亜硝酸化処理における各態窒素濃度の経日変化を示した。最終的に窒素容積負荷量を $3.5\text{kg-N/m}^3/\text{day}$ に設定し、リアクタ内の pH を 7.5、温度を 35°C に維持することで、 $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$ 比が 1.15 となり目的とした部分亜硝酸化処理が達成できた。また、pH、温度をコントロールしなかった条件でも、平均 $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$ 比が 1.16 の処理水を得ることができた。これは、脱離液には高濃度のアンモニア性窒素が含まれており、pH が高いため遊離の NH_3 、 HNO_2 により NOB の活性が抑制されたためではないかと考えられる。

BOD は部分亜硝酸化処理において平均して 72% の効率で処理できた。脱離液中に含有される SS 成分は、部分亜硝酸化処理の過程で良好に除去され、 $10\text{--}20\text{mg/L}$ 程度の処理水 SS 濃度となった。

Anammox リアクタは実験期間を通じて平均 $1.8\text{kg/m}^3/\text{d}$ の窒素容積負荷で運転し、安定した処理を達成することができた。Anammox 処理期間中では BOD、SS 成分はほとんど除去されなかったが、残存する BOD、SS 成分が Anammox 反応に影響することはなかった。部分亜硝酸化-Anammox プロセスでの T-N 除去率の平均は 70.3% であった。

4. 成果の達成度

平成 18 年度の研究成果を受けて、今年度は Anammox 反応の実排水への適用を視野に、実排水を処理対象に研究を進めた。実排水には、これまで使用してきた合成無機排水と違って、有機物や SS といった Anammox 反応を阻害する成分が含有され、実排水処理で問題となる。

そこで、SS 含有量の多いバイオガスプラント脱離液を処理対象に、PEG で包括固定化した硝化ペレットを用いた部分亜硝酸化処理を行い、バイオガスプラント脱離液中のアンモニアの約半量を亜硝酸に酸化する部分亜硝酸化処理を、 $1.5\text{kg-N/m}^3/\text{day}$ の負荷域で流入水の有機物、SS 濃度の影響を受けることなく安定して行うことができた。続く Anammox 処理を、同じく PEG で包括固定化した Anammox ペレットを用いて行った。当初は、部分亜硝酸化処理水を希釈して試験したが、最終的に希釈することなく部分亜硝酸化処理水をそのまま Anammox ペレットを用いたリアクタに供給し、 $5.3\text{kg-N/m}^3/\text{day}$ という高い窒素負荷量で Anammox 処理が可能であることを認めた。本実験で用いた Anammox ペレットは PEG 系のゲルに Anammox 菌が包括固定されていることから、有機物や SS の影響を Anammox 菌が受け難くなっている。予想通りに、Anammox ペレットは有機物、SS の影響を受けることなく機能することを実排水処理で認めた。

都市下水処理場の嫌気性消化脱離液を処理対象に、揺動床による部分亜硝酸化処理を行い、 $3.5\text{kg-N/m}^3/\text{day}$ の高い負荷域で、Anammox に適した部分亜硝酸化処理を達成できた。続く BX を担体とする Anammox 処理でも有機物や SS の影響を受けることなく Anammox 反応が起こることを認めた。

5. 平成 20 年度の目的・目標

- 1) バイオガスプラント脱離液を処理対象に、揺動床による部分亜硝酸化処理リアクタのスケールアップ試験を実排水を用いて行う。
- 2) BOD、SS を高濃度で含有するバイオガス脱離液を処理対象に、グラニューール状の Anammox 汚泥を用いた処理試験を行う。
- 3) ポリビニール(PVA)を用いる Anammox 細菌の包括固定化処理ペレットと PEG ペレットの性能比較を行う。
- 4) 天然ガス製造プラントから排出される塩分濃度の高いかん水に部分亜硝酸化処理—Anammox 処理が適用できるか、実排水を用いて検討する。

6. 研究費獲得状況 (Anammox 関係で獲得した外部資金)

<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 19 年度 2,595 万円、平成 18 年～20 年

<共同研究>

- ・ 関東ガス開発(株) 150 万円
- ・ 荏原環境エンジニアリング(株) 100 万円
- ・ (株)タクマ 100 万円

<奨学寄附金>

- ・(株)クラレ、100 万円
- ・オルガノ(株)、100 万円
- ・(株)石垣、100 万円
- ・Jeon Tech. Co. Ltd. (韓国) 100 万円
- ・日立プラント(株)、100 万円

8. 研究発表、特許状況 (Anammox に関する平成 19 年度の成果)

1) 国内誌 (和文)

- ・ 藤井隆夫、古川憲治：嫌気的アンモニア酸化 (Anammox) の反応機構と微生物複合システム解析、生物工学、Vol. 85, No. 5, pp. 218-220(2007)
- ・ 古川憲治：嫌気性アンモニア酸化 (anammox) 反応を活用する新規窒素除去技術の開発、タクマ技報、Vol. 15, No. 1, pp. 1-12(2007)

2) 国際誌

- ・ Sen Qiao, Yingjun Cheng, Zhijun Liu, Yasunori Kawagoshi, Aya Fujimoto, Toichro Koyama and Kenji Furukawa: Anammox Treatment Potential in an Up-Flow Column Reactor using a Novel Acrylic Fiber Biomass Carrier, Japanese J. of Water Treatment Biology, Vol.43, No.1, pp.31-41(2007)
- ・ Zheng Gong, Fenglin Yang, Sitong Liu, Han Bao, Shaowei Hu and Kenji Furukawa: Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve single-stage autotrophic nitrogen removal based on Anammox, Chemosphere, Vol. 69, pp.776-784(2007)
- ・ Sitong Liu, Zheng Gong, Fenglin Yang, Hanmin Zgang, Lijun Shi and Kenji Furukawa: Combined process of urea nitrogen removal in anaerobic Anammox co-culture reactor, Bioresource Technology, Vol. 99, pp.1722-1728(2008)
- ・ Jun Nakajima, Makiko Sakka, Tetsuya Kimura, Kenji Furukawa and Kazuo Sakka: Enrichment of anammox bacteria from marine environment for the construction of a bioremediation reactor, Environmental Biotechnology, Vol.88, pp.1159-1166(2008)
- ・ Zheng Gong, Sitong Liu, Fenglin Yang, Han Bao and Kenji Furukawa: Characterization of functional microbial community in a membrane-aerated biofilm reactor operated for completely autotrophic nitrogen removal, Bioresource Technology, Vol. 99, pp.1722-1728(2008)

3) 特許

- ・ 廃水処理システム、KU07-001、2007. 4. 26 特許出願、特願 2007-116833

4) 著書

- ・ 古川憲治：「排水・汚水処理技術集成」共著、嫌気性アンモニア酸化細菌による排水処理技術、pp. 85-95、エヌ・ティー・エス(2007. 5)

- ・ 古川憲治：「環境化学の事典」共著、水環境の保全、pp. 303-304，朝倉書店 (2007. 11)

5) 国際学会

- ・ Taichi Ymamoto, Keita Takaki, Touichirou Koyama and Kenji Furukawa: Novel partial nitrification treatment for anaerobic digestion liquor of swine wastewater as pretreatment for ANAMMOX, Proceeding of Nutrient Removal 2007, pp.470-482(2007)
- ・ Le Cong Nhat Phuong, Ngyen Phon Phu, Ngo Ke Suong, Nguyen Tien Thang, Pham Khac Lieu and Kenji Furukawa: Nitritation-anammox Pilot System for Nitrogen Removal from Effluent of UASB Reactor Treating Swine Wastewater, Proceedings of The 7th General Seminar of Core University Program, pp. 313-319, Danag, Vietnam (2007.2.27-28)
- ・ Tran Thi Hien Hoa, Luong Ngoc Khanh, Kakao Fujii, Munesige Kinoshita, Hiroyuki Okamoto and Kenji Furukawa: Anammox Treatment Performance Using Malt Ceramics as a Biomass Carrier, Proceedings of The 7th General Seminar of Core University Program, pp. 361-369, Danag, Vietnam (2007.2.27-28)
- ・ Sen Qiao, Yingjun Cheng, Toichiro Koyama and Kenji Furukawa: Application of partial nitritation-Anammox process for nitrogen removal of anaerobic digester liquor treatment, Proceeding of IWA Biofilm Technologies Conference, pp. 419-420, Singapore (2008.1.08-10)

6) 国内学会

<日本生物工学会平成 19 年度大会> 広島大学、2007. 9. 25-27

- ・ 西山孝、川原優香、古川憲治、藤井隆夫：Anammox 菌で大量発現しているヘムタンパク質遺伝子の転写開始領域の比較、日本生物工学会大会講演概要集、2H16-1 (2007)
- ・ 河瀬達志、新屋寿崇、島村宗孝、西山孝、古川憲治、藤井隆夫：Anammox 菌のヒドロキシルアミン酸化還元酵素とその一次構造、2C17-1 (2007)
- ・ 山本太一、高木啓太、小山登一郎、古川憲治：部分亜硝酸化と Anammox の養豚排水嫌気性脱離液処理への適用、2A17-2 (2007)

<日本農芸化学会西日本支部大会> 山口大学、2007. 9. 14-15

- ・ 河瀬達志¹、島村宗孝¹、西山孝¹、古川憲治²、藤井隆夫¹、anammox 菌の cytochrome c_{552} の精製と性質 (2007)

<日本水環境学会シンポジウム> 熊本大学、2007. 9. 18-19

- ・ 古川憲治、喬森：部分亜硝酸化/anammox による都市下水処理場嫌気性消化脱離液の窒素除去、第 10 回日本水環境学会シンポジウム講演集、pp. 169-170 (2007)
- ・ 藤井隆夫、島村宗孝、西山孝、古川憲治：anammox 菌 KSU-1 株の産生するヒドラジン酸化酵素とヒドロキシルアミン酸化還元酵素、第 10 回日本水環境学会シンポジウム講演集、pp. 171-172 (2007)
- ・ 末永光、古川憲治、藤井隆夫、金川貴博：DNA 酵素 (デオキシリボザイム)

を用いた ANAMMOX 微生物の増殖活性のモニタリング、第 10 回日本水環境学会シンポジウム講演集、pp. 174(2007)

＜日本水処理生物学会＞富山国際会議場、2008. 11. 14-16

- ・ 神田龍一、古川憲治：MAP 処理したバイオガス化プラント廃水の部分亜硝酸化処理に関する研究、日本水処理生物学会誌、別巻 27 号、p. 33(2008)
- ・ 山本太一、劉成良、古川憲治：不織布を担体として用いた Anammox 処理における塩濃度の影響、日本水処理生物学会誌、別巻 27 号、p. 73(2008)
- ・ Sen Qiao, Yuki Kawakubo and Kenji Furukawa: Application of the partial nitritation-anammox process for nitrogen removal of anaerobic digester liquor, 日本水処理生物学会誌、別巻 27 号、p. 87(2008)

＜日本水環境学会九州支部研究発表会＞熊本大学、2008. 3. 1

- ・ 川久保祐貴、喬 森、古川憲治：都市下水処理場の嫌気性消化脱離液の部分亜硝酸化・Anammox 処理、日本水環境学会九州支部研究発表会講演概要集、pp. 23-24(2008)
- ・ 藤井隆夫、広瀬達志、島村宗孝、西山孝、古川憲治：anammox 菌 KSU-1 株の持つ「異常」c 型ヘムたんぱく質、日本水環境学会九州支部研究発表会講演概要集、p. 27 (2008)

＜平成 18 年度土木学会西部支部研究発表会＞長崎大学、2008. 3. 8

- ・ 篠原健彦、山本太一、古川憲治、海宝龍夫：かん水を対象とした部分亜硝酸化処理に関する研究、平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会講演要旨集 CO-ROM, pp. 899-900(2008)
- ・ 尾野薫、山本太一、古川憲治：ハイブリッド Anammox リアクタの開発に関する研究、平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会講演要旨集 CO-ROM, pp. 901-902(2008)
- ・ 三坂端輝、山本太一、古川憲治：Anammox グラニュールによるバイオガス脱離液処理、平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会講演要旨集 CO-ROM, pp. 917-918(2008)

＜日本水環境学会年会＞名古屋大学、2008. 3. 19-21

- ・ 山本太一、劉成良、藤井隆夫、古川憲治：高塩濃度条件下における Anammox 処理、第 42 回日本水環境学会年会講演集、1-G-16-2(2008)
- ・ 喬森、川久保祐貴、古川憲治：Application of the partial nitritation-Anammox process for nitrogen removal of raw reject water、第 42 回日本水環境学会年会講演集、1-G-16-3(2008)
- ・ 神田龍一、古川憲治：MAP 処理したメタン醗酵脱離液の部分亜硝酸化処理に関する研究、第 42 回日本水環境学会年会講演集、3-G-09-3(2008)

平成19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) 平成15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、水産資源の持続的利用システムを開発することを目的とする。

(2) 平成19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の3つの課題からなる。

「生物多様性の保全」では、有明海・八代海の底生生物相を明らかにすることと、両海域を代表するハクセンシオマネキなどの底生動物を対象に、生活史・生息状況と環境との関連を明らかにすることを目的とした。

「水産資源の持続的利用」では、ハマグリをモデルに、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、さらには熊本県におけるブランド化を進めることを目的とした。

「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生の技術開発を行うことを目的とした。

2. 平成19年度の研究成果

① 生物多様性の保全

全国干潟底生動物相調査の結果を取りまとめ、報告書として出版すると共に、学会で発表した。なお、本調査は2002～2004年に全国157カ所の干潟で行われた国内初の干潟底生動物に関する全国規模の調査で、逸見が九州地区を担当した。調査の結果、全国で1667種の底生生物が確認されたが、中でも九州地区が多く、計700種であった（以下、沖縄地区630種、中国四国地区454種、近畿地区380種の順）。九州の中でも、出現種数が多かったのは有明海で、いずれの調査地でも50種以上の底生動物が確認された（図1、平均88種、最大は天草松島の148種）。以下、平均出現種数は、奄美大島の86種、八代海の75種、九州東北部の70種、玄界灘58種の順であった。このように有明海・八代海は底生動物の多様性が高く、彼らの重要な生息地であることが再確認された。

ナメクジウオについては、個体群構造の年変動に関する研究を継続した。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。今年度も、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。現在のところ、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。

トゲイカリナマコについては、宿主・寄生者（共生者）の種間関係を中心に研究を進め、論文として発表した。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。今年度も、それぞれの種の生活史に焦点をあてて研究を行った。

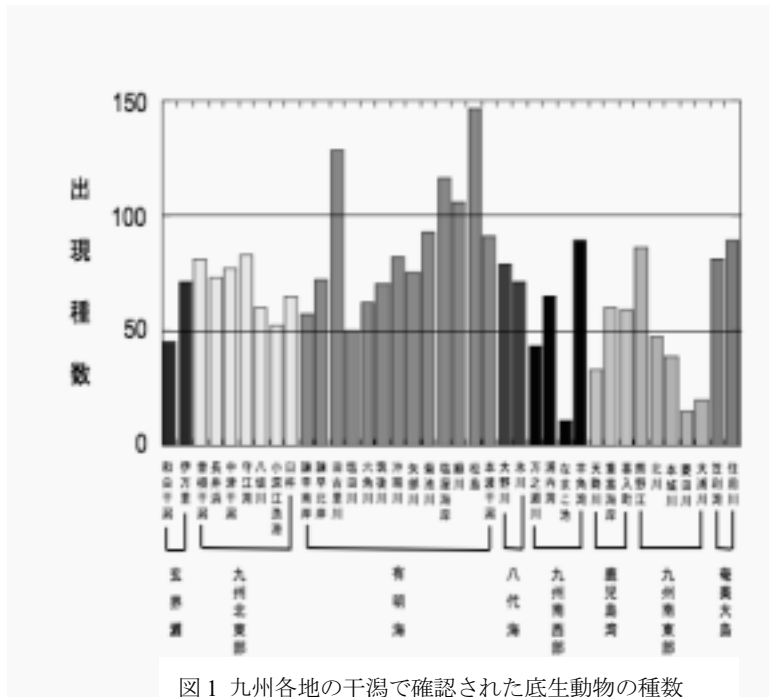


図1 九州各地の干潟で確認された底生動物の種数

② 水産資源の持続的利用（ハマグリをモデルとして）

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、絶滅危惧種に指定している県も少なくない。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、生物撓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。

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。しかし、稚貝は多く、殻長3cm未満のハマグリは加布里では172個体/m²、白川河口（海域）では118個体/m²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、ハマグリは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。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は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。

なお、水産資源の管理には、対象種の生活史や生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。今年度は、熊本県漁連を対象とした講演会を開催するなど、研究結果の説明や資源保全に関する協議を重ね、ハマグリ資源保全のための有効な政策提言を検討した。

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、フクド・ハマツナ・シオクグ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・生息している。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。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・ハマツナを移植した。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・ハマツナが流失、ナガミノオニシバの一部が枯死した。このように、入り江部と異なり、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。ちなみに、今年度は台風の襲来もなく、塩生植物は順調に生育した。

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。まだ、ミチゲーション案は未完成で(図2)、今後改良を重ねて行かなくてはならない段階である。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。

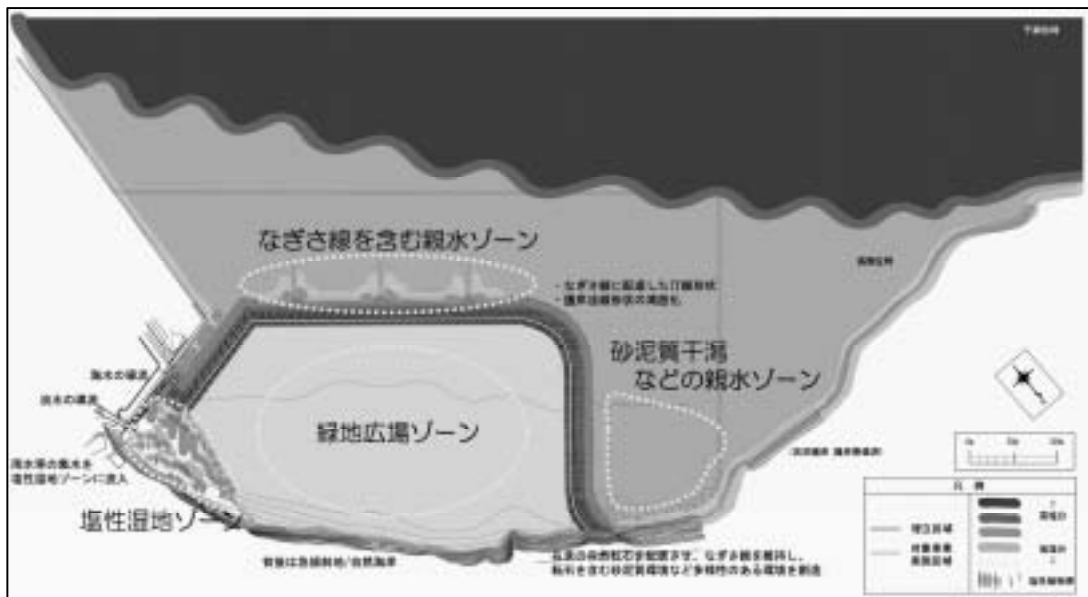


図2 熊本市塩屋海岸におけるミチゲーション案

3. 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。

4. 平成19年度の問題など

野外調査や標本の処理に人手が必要であり、学生のRAだけでは十分に研究を進めることが不可能である。

5. 平成19年度の研究費取得状況

- (1) 科学研究費補助金基盤研究 (C) (代表), 2007年度, 150万円, ハマグリの資源回復と持続的利用のための研究
- (2) 政策創造研究センター・プロジェクト研究 (分担), 2007年, 160万円, 有明海・八代海の生物生息環境の評価・保全・再生

6. 平成19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. Yasui K., Urata M., Yamaguchi N., Ueda. H. and Henmi Y. (2007) Laboratory Culture of the Oriental Lancelet *Branchiostoma belcheri*. Zool. Sci. 24, 513-520.
2. Urata, M., Yamaguchi, N., Henmi. Y. and Yasui K. (2007) Larval Development of the Oriental Lancelet, *Branchiostoma belcheri*, in Laboratory Mass Culture. . Zool. Sci. 24, 787-797.

3. Kai, T. and Henmi, Y. (2008) Redescription and habitat of *Elamenopsis ariakensis* (Brac28: 408-417. Hyura: Hymenosomatidae) living within the burrows of the sea cucumber *Protankyra bidentata*. *Journal of Crustacean Research* 28:, 408-417.

(2) 原著論文以外による発表

1. 逸見泰久 他 25 名, 第 7 回自然環境保全基礎調査・浅海域生態系調査(干潟調査) 報告書 (2007).
環境省自然環境局 生物多様性センター
2. 内野明德・逸見泰久・柿本竜治・福田靖・上村彰 (2008). 有明海・八代海の生物生息環境の評価・保全・再生. 政策創造研究プロジェクト 2007 年度報告書. 政策創造研究センター. 印刷中.

(3) 学会発表

1. Watanabe, T. and Henmi, Y. Life history of the commensal pea crab *Arcotheres alcocki* living in the bivalve *Barbatia virescens*, Meeting of the International Society of Invertebrate Reproduction and Development, Panama, 2007.8.
2. 山本宇彦・逸見泰久, アラムシロガイ *Nassarius festivus* の体サイズの違いから見る採餌生態. 日本動物学会・日本植物学会・日本生態学会・沖縄生物学会 合同大会, 福岡市, 2007.5.
3. 逸見泰久, ハマグリ *Meretrix lusoria* の定着・分散・成長・生残と資源管理. 日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会, 横浜市, 2007.9.
4. 逸見泰久・佐藤正典, 九州の干潟に生息する底生動物の現状. 日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会, 横浜市, 2007.9.
5. 竹下文雄・逸見泰久, マルエラワレカラの交尾前ガード行動における雄間の闘争とガード時間. 日本甲殻類学会, 函館市, 2007.10.
6. 山口隆男・逸見泰久, ヨツバモガニにもある Barbed Setae. 日本甲殻類学会, 函館市, 2007.10.
7. 逸見泰久・梶原信輔・小林哲, ハマグリの定着・移動・成長と資源管理, 日本水産学会九州支部大会, 宮崎市, 2008.1.
8. 竹下文雄・逸見泰久, マルエラワレカラの交尾前ガードにおける性的対立: なぜ雌はガードをいやがるのか? 日本生態学会, 福岡市, 2008.3.
9. 梶原信輔・逸見泰久, 異なる地盤高へのヨシの移植とその後のヨシ並びに巻貝相の変化, 日本生態学会, 福岡市, 2008.3.
10. 野島崇・逸見泰久, チゴガニ雌の雄サイズ及び交尾巣穴に対する嗜好性, 日本生態学会, 福岡市, 2008.3.
11. 逸見泰久・梶原信輔・小林哲, ハマグリの生活史と資源管理, 日本生態学会, 福岡市, 2008.3.

(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 19 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。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 19 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の嫌気的および好气的条件下での生物学的処理機構の検討、および②環境負荷軽減のために大豆煮汁の有効利用を目的として製造した醸造酢に含まれる機能性物質に関する検討を行った。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、平成 18 年度に引き続いて、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 嫌気および好気条件での天然ホルモンの分解と関与する微生物群集の解析

(1) 緒言

内分泌攪乱物質による生態系への影響が問題となっているが、内分泌攪乱物質としては化学合成物質だけでなく天然に存在するホルモン(天然ホルモン)が無視できないことがわかってきた。天然ホルモンとはヒトや家畜の排せつ物に含まれるもので、体内で使用済みとなったホルモンである。この中でも 17 β -エストラジオール(E2)などの天然女性ホルモンが水棲生物に影響を与えていると言われている。

ヒトや家畜の排泄物は下水処理場などで処理され環境中に放流される。天然ホルモンの分解率は処理施設の構造や特性などにより異なるが、多くの処理性施設では好気や嫌気条件での生物処理が行われており、生物処理での分解特性を知ることは重要である。そこで本研究では、天然ホルモンの微生物分解に着目し、好気および嫌気条件での天然ホルモンの分解と関与する微生物群集の解析を行い、天然ホルモンの微生物分解に関する知見を得ることを目的として研究を行った。

(2) 実験材料および方法

嫌気処理では、槽内温度を 37°C に制御した完全混合型リアクターに、嫌気性中温消化汚泥を微生物源とし、天然ホルモンである E2 および酪酸を炭素源とする合成廃水を供給する連続

培養系を構築した。好気処理では、槽内温度を 30°C に制御した沈殿部と曝気部からなるリアクターに曝気槽汚泥を種汚泥とし、エストロン (E1) 含有合成廃水を供給する連続培養系を構築した。E2 および E1 の測定には抗原抗体反応を利用した ELISA 法、エストロゲン活性の測定にはヒトのエストロゲンレセプターを組み込んだ酵母を用いる酵母 Two-Hybrid 法、中間代謝産物の測定には GC/MS 法を使用した。また天然ホルモンの分解に関与する微生物群集の解析には 16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行った。

(3) 実験結果および考察

嫌気処理では、供給液の TOC 濃度 8 g/l、希釈率 0.05 d⁻¹ の条件で供給された E2 (100 µg/l) の 90% 以上が検出されなくなったが、E2 供給開始とともに E2 よりも弱いエストロゲン活性を有する E1 が約 60 µg/l まで増加した。これより、嫌気条件で E2 は微生物により E1 に酸化されることが示唆された。E2 が E1 に酸化されることにより、酵母 Two-Hybrid 法によるエストロゲン活性は約 60% 減少していた。GC/MS 法による中間代謝産物の測定では、E1 以外に 17α-エストラジオールが約 1 µg/l 検出された。供給された E2 に対して当量の代謝産物が生成されていないので GC/MS で更なる代謝産物を調査する必要がある。E1 の分解率をさらに高くするために、供給液の酪酸濃度を上げて検討したが、供給液の酪酸濃度の増加に伴い、E1 の蓄積量も増加し完全分解することはできなかった。

供給液の TOC 濃度 8 g/l、希釈率 0.05 d⁻¹ の条件での槽内の真正細菌 (*Bacteria*) を 16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行なった結果、最も優占していた微生物は酪酸を炭素源とした中温メタン発酵で検出された *Proteobacteria* 門と *Firmicutes* 門に近縁な微生物であった。易分解性物質である酪酸を分解するときに E2 も分解する共酸化は起こらず、易分解性物質だけを選択的に分解する微生物が槽内には優占しているのではないかと考えられた。今回行った 16S rRNA 遺伝子のクローン解析で、嫌気条件で E2 または E1 を分解する微生物の同定はできなかったため、今後は Stable Isotope Probing (SIP) 法などの手法を用いて天然ホルモンの分解に直接関与する微生物を特定する。

好気条件では嫌気条件で分解できなかった E1 が完全に分解できた。リアクター槽内液から 2 種類の方法で E1 分解菌を単離した。今後、これらの単離株の同定および E1 分解能の評価を行う。

2.2 大豆煮汁から製造した醸造酢に含まれる機能性物質に関する検討

われわれは、黒大豆納豆製造工程から副生する黒大豆煮汁を有効に再利用するために醸造酢を製造し、その機能性について調べた。一般の市場において、大豆成分を利用した酢は多く見られるが、大豆煮汁そのものを用いてアルコール発酵および酢酸発酵を行い、上市されている商品はない。黒大豆煮汁醸造酢の *in vivo* における抗腫瘍活性の作用メカニズムを検討した結果、酢酸エチル抽出画分が単核球性白血病細胞 (U937) に対してアポトーシスを誘導することを明らかにし、*in vivo* における抗腫瘍活性機構の一つの可能性を示した。さまざまな原料を用いて製造された醸造酢のアポトーシス誘導活性は数多く報告されているが、それらに含まれる活性成分については言及されていない。われわれは、黒大豆煮汁醸造酢から、U937 細胞に対して 40~80 µg/ml の濃度でアポトーシスを誘導する Compound-6 を単離することに成功した。これまで報告のある限りでは、醸造酢中からアポトーシス誘導物質が単離・精製されたのは初めてと思われる。

構造解析の結果から、Compound-6 はトリプトフォールの類縁物質であること、また、トリ

プトフォールと構造が類似している I3C およびその二量体である DIM とも類縁関係にあることが示唆されたため、これらの構造解析結果や生理活性の相互関係から Compound-6 の構造を推測した。トリプトフォールの標準物質は約 2 mM で U937 細胞に対して DNA 断片化を誘導したが、その類縁体である I3C は約 500 μ M で誘導し、その二量体である DIM は約 100 μ M で誘導した。トリプトフォールと I3C は炭素鎖 1 つの相違しかないにも関わらず、誘導能は約 4 倍の差があり、また、I3C の二量体である DIM では約 5 倍のアポトーシス誘導能をもつことがわかった。Compound-6 は 40-80 μ g/ml (100-200 μ M; 分子量 402 として) で U937 に DNA 断片化を誘導したという結果であり、トリプトフォールの 2 mM とは大きな誘導能の差がみられた。この結果は、Compound-6 とトリプトフォールの構造に相違があるというわれわれの推察を強めるものであった。また、Compound-6 とトリプトフォールの構造の違いが生理活性値の違いに現れることを予想して、簡易的に評価することができる DPPH ラジカル消去活性を測定した。その結果、本実験においても Compound-6 とトリプトフォールの間に大きな差が見られた。そして、その活性の差は、トリプトフォールとその 2 量体である DIM との差と相関が見られ、Compound-6 がトリプトフォールの二量体であるという構造解析からの推察を助けるものであった。このように、構造の類似している物質間の生理活性値の相違は非常に興味深い研究結果であった。物質の構造とさまざまな生理活性値の関係や、構造による培養細胞の応答性は単純ではなく、とても複雑なものと考えられる。これは、細胞内タンパク質の発現が細胞種によって異なることや、細胞が生理活性物質に対して耐性をもつようになることなどの要因があるといわれているが、その詳細については解明されていない。物質の構造の特徴と様々な生理活性の強度との関連性が解明されれば、活性物質を人為的に合成することが可能になるかもしれない。

Compound-6 は正常白血球細胞に対する細胞毒性が U937 細胞と比較して有意に低く、アポトーシスを誘導しないことを明らかにし、その要因を解明するため、アポトーシス誘導メカニズムの解明を試みた。Compound-6 はアポトーシス誘導作用をつかさどる主要酵素であるカスパーゼ 8 および 3 を活性化し、カスパーゼ 9 は活性化しなかった。次に、カスパーゼ 8 の上流領域の作用機構を調べたところ、Compound-6 は DR5 を含んだ DISC の形成を促進させることが明らかになり、DR5 を経由してアポトーシスが惹起されるという Compound-6 の誘導メカニズムを提唱した。

Compound-6 の生成由来を調べたところ、原料中のトリプトファンを酵母が変換した二次代謝産物であることがわかり、Compound-6 は黒大豆煮汁醸造酢だけではなく、トリプトファンが原料に含まれ、酵母によって発酵された産物であれば原料の種類に限らず生成されてくる物質であることを明らかにした。また、トリプトファンはアポトーシスを誘導しなかったが、Compound-6 に変換されることによって U937 細胞に対して低濃度でアポトーシスを誘導することが示された。

黒大豆煮汁醸造酢から単離された Compound-6 は黒大豆煮汁に特異的ではなく、米、芋や麦焼酎粕および焼酎粕から製造した醸造酢にも含まれていることがわかった。焼酎粕は焼酎の製造過程で大量に副生するものであり、以前は海洋投棄や焼却によって処分されていたが、焼酎粕から容易に有用物質を抽出する技術が確立されれば、優れたリサイクル方法になると考える。大豆煮汁醸造酢や各種焼酎粕中の Compound-6 含有量を調べたところ、それら 1 kg 中に 5~15 mg 程度しか含まれていなかった。Compound-6 は細胞培養系において、U937 細

胞に対して 40-80 $\mu\text{g/ml}$ の濃度でアポトーシスを誘導するが、Compound-6 が生体において実際にどのくらいの効率で小腸から吸収され、ガン細胞に対してどのように作用するか、また、製造した黒大豆煮汁醸造酢の *in vivo* での実験結果にどのくらい寄与しているのかは、本研究のみでは全く不明である。また、世界の食品機能性研究においてヒト臨床試験、動物試験および細胞培養試験を明確に関連づけて説明した報告はないため、物質の性質と摂取量に対する小腸内での吸収における関連性の解明が望まれる。

2.3 干潟の浄化能再生技術の開発

(1) 緒言

干潟環境の悪化が、有機物の流入量増加と干潟底質の有機物分解能の低下から生じる貧酸素化等を原因とした硫化水素の発生に起因すると考えた場合、底質環境を好気環境にし、好気性微生物の働きを高めて有機物量を減少させる改善技術が有効であると考えられる。底質中の微生物叢は底質の好気・嫌気状態や栄養状態と強く相関しており、環境変動に敏感である。したがって、底質環境の状態をモニタリングする指標として微生物叢を利用する。われわれは、干潟底質の微生物機能を解析し、解析結果を改善技術の開発に利用することを課題とする。改善技術の微生物に及ぼす影響について、窒素あるいは硫黄代謝に関与する微生物を検討するために、機能性遺伝子に着目した分子生態学的手法を用いた解析を実施した。

(2) 実験方法

底質を好気条件にするために従来から行われてきた手法であるエアレーションや耕耘法を、底質環境改善シミュレーション装置を用いて室内で再現し、異なる酸化還元電位での微生物叢の解析、好気性微生物の優占度の評価、有機物の分解能の評価を行った。さらに、人工巣穴の底質改善効果についても室内実験を行い、底質環境改善シミュレーション装置で得られた結果（微生物叢の変化、底質環境、浄化能力）と比較した。そして、人工巣穴の浄化能を最大とする条件検討（巣穴形状、配置等）を行った。また、有明海現地人工巣穴設置後の微生物叢のモニタリングを行うことにより、現地改善効果を明らかにした。

(3) 結果と考察

1) 室内耕耘試験

室内耕耘装置と熊本市松尾町の百貫港の底質を用いて室内耕耘試験を行った。耕耘部の底質の ORP は耕耘 1 日目から増加し、3 日目に 70 mV まで上がったが、耕耘を行わない底質の ORP は 3 日目までほとんど変化しなかった。耕耘により底質は好気環境にシフトすることがわかった。硫酸還元細菌の *dsrB* 遺伝子を PCR により増幅したところ、耕耘しない部分のすべてのサンプルにおいて増幅ができたのに対して、耕耘部のサンプルにおいては耕耘の 3 日目から増幅ができなくなった。したがって、硫酸還元細菌は耕耘により減少したと考えられた。しかし、耕耘終了後一週間目には増幅が確認できたことから、耕耘の効果は短期間しか持続できないと考えられた。

2) 室内と現地人工巣穴設置試験

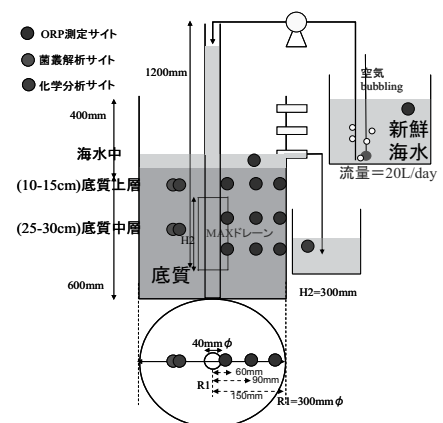
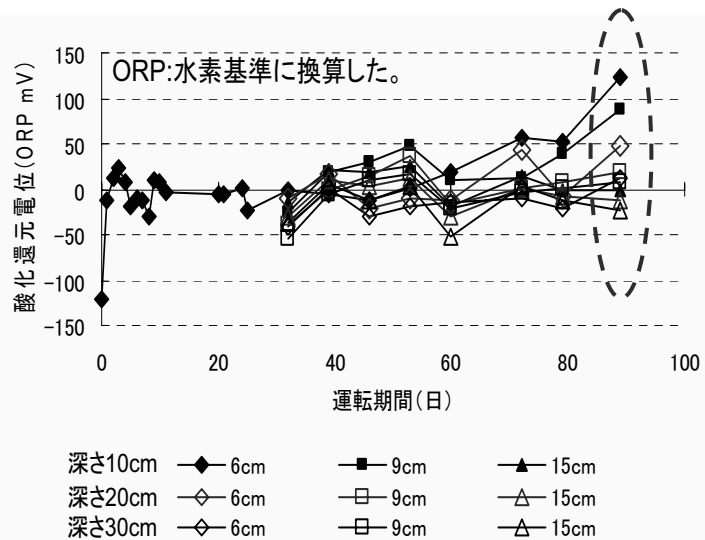


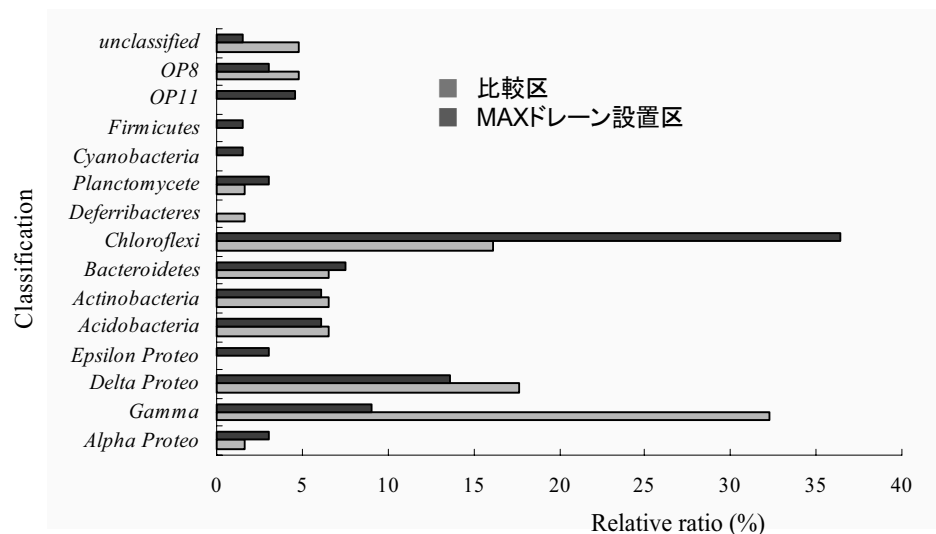
図1 室内人工巣穴設置試験に用いた装置略図

熊本市松尾町の百貫港から採取した底泥を用いて人工巣穴装置を立ち上げた（図 1）。空気に通気した新鮮な人工海水を人工巣穴の中に連続で供給した。人工巣穴の中心からの距離が 6 cm、9 cm、15 cm 離れた地点の深さ 10 cm、20 cm、30 cm における ORP の変化を図 2 に示した。人工巣穴の中心から 6 cm 離れた地点では、1 日目から ORP が上昇し、実験終了の 89 日目まで徐々に上昇し続けた。また、深さ 10 cm では巣穴に近い場所ほど ORP が高く、人工巣穴によって底質環境がより好氣的な環境にシフトしたと考えられた。

人工巣穴現地試験においては、DGGE による機能性遺伝子の解析で最も顕著にバンドパターンに相違が見られたのは、硫酸還元菌の *dsrB* 遺伝子領域を標的としたものであった。設置 8 ヶ月後以降では中層および下層においてドレーンタイプと MAX ドレーンタイプの設置区域のバンドパターンが比較区に比べて明らかに薄くなっており、硫酸還元菌のポピュレーションやダイバーシティの減少が示唆された。設置 8 ヶ月後干潟域



の比較区および MAX ドレーンタイプ設置区サンプルを用いてクローン解析を行ったところ、硫酸還元菌を含む嫌気性細菌に近縁なクローンの割合は比較区に比べて顕著に減少していたことがわかった（図 3）。また、設置 8 ヶ月後からは中層と下層だけでなく上層にも変化が現れ始めた。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、8 ヶ月や 9 ヶ月という長期間にわた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た結果であると考えられた。人工巣穴設置の効果は短期的なものではなく、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が示唆された。

3)微生物の定量化

改善効果を微生物レベルで定量的に評価するために、底質中の全細菌と硫酸還元細菌の定

量方法を検討した。その結果、16S rRNA 遺伝子と *dsr* 遺伝子に基づいた定量 PCR による定量方法をほぼ確立できた。

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. 今後の目標

領域 (A) では、現地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、生理活性物質の同定、生理活性評価、生理活性物質の生成機構および作用機構の解明を行うことで、科学的根拠に基づく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貢献したい。

5. 平成 19 年度の研究費取得状況

(1) 受託研究 (NEDO)、2007年、11,185,650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 (崇城大学)、2007年、2,520,000円、平成19年度「新エネルギー技術開発プログラム／新エネルギー技術研究開発／新エネルギーベンチャー技術革新事業 (バイオマス)／九州発ビレッジテクノロジー構築に向けた竹からのバイオエタノール変換の技術開発

(3) 受託研究 ((株)りゅうせき)、2007年、7,692,541円、環境省 平成19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)

(4) 科学技術振興調整費 (熊本大学代表：滝川先生)、2007年、4,833,000円、底質機能の微生物学的評価と改善技術の検討

(5) 科研費、2007年、1,950,000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

(6) 共同研究 (国立大学法人福島大学)、2007年、1,000,000円、水生植物残渣バイオマスからのアルコール発酵に関する技術開発研究

(7) 共同研究 (東京瓦斯 (株))、2007年、3,000,000円、生ごみを主原料としたアルコール生産プロセス開発および、当該システムに有効なアルコール発酵酵母の育種に関する共同研究

(8) 共同研究 ((株)ミツカングループ本社)、2007年、1,500,000円、中国固体酢酸発酵における特徴的香气生成の微生物学的メカニズム解析

7. 平成 19 年度の研究発表、特許状況

(1) 原著論文による発表 計 12 件

a) 和文誌

- 1) 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・トリプトフォーール. 日本醸造協会誌、**102**, 222-224 (2007).
- 2) 湯 岳琴、宮川博士、尾崎綾子、森村 茂、木田建次: rRNA 遺伝子のスペーサー領域の塩基配列に基づく焼酎酵母の識別. 日本醸造協会誌、**102**, 679-684 (2007).

b) 英文誌

- 1) 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).
- 2) Inagaki, S., Morimura, S., Gondo, K., Tang, Y.Q., Akutagawam 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).
- 3) 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., **75**, 451-465 (2007).
- 4) Inagaki, S., Morimura, S., Tang, Y.Q., Akutagawam H., Kida, K.: Tryptophol induces death receptor (DR) 5-mediated apoptosis in U937 cells. Biosci. Biotechnol. Biochem., **71**, 2065-2068 (2007).
- 5) Takamine K, Abe J., Shimono K., Sameshima Y., Morimura S., Kida K.: Physicochemical and gelling characterizations of pectin extracted from sweetpotato pulp. J. Appl. Glycosci., **154**, 211-216 (2007).
- 6) An, M.Z., Tang, Y.Q., Morimura, S., Kida, K.: Treatment of distillation wastewater from production process of fuel ethanol from wood biomass. Jpn. Soc. Water Treat. Biol., **43**, 209-217 (2007).
- 7) Tang, Y.Q., Fujimura, Y., Shigematsu, T., Morimura, S., Kida, K.: Anaerobic treatment performance and microbial population of thermophilic upflow anaerobic filter reactor treating awamori distillery wastewater. J. Biosci. Bioeng., **104**, 281-287 (2007).
- 8) Cao, X., Tsukamoto, T., Seki, T., Tanaka, H., Morimura, S., Cao, L., Mizoshita, T., Ban, H., Toyoda, T., Maeda, H., Tatematsu, M.: 4-Vinyl-2,6-dimethoxyphenol (canolol) suppresses oxidative stress and gastric carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected carcinogen-treated Mongolian gerbils. Int. J. Cancer. 2007 Dec 4.
- 9) Bin Guo, Jun Gu, Yu-Gaung Ye, Yue-Qin Tang, Kenji Kida and Xiao-Lei Wu: *Marinobacter segnicrescens* sp. nov., a moderate halophile isolated from benthic sediment of the South China Sea, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, **57**, 1970-1974 (2007).
- 10) F. Liu, S. Ye, Y. Tang, K. Takikawa, K. Kida, X. Wu: Microbial community structure analysis of the coastal wetland soil in the Yellow River Delta, Archive of Applied and Environmental Biology. 2007, No.5 (In Chinese)

(2) 学会発表 計 34 件

- 1) 中尾泰彰、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「乾式メタン発酵に関与する微生物群集の解析とセルロースを分解するコンソーシアムの構築」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.16, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 2) 福田雄典、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「中国酢酸固体発酵における微生物群集の解析」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.16, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 3) 庄 智裕、横尾栄満、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「グルコースを単一炭素源としたメタン発酵に関与する微生物群集の解析」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.17, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 4) 宮川博士、徐 占華、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「塩基配列による長期さしもとにおける酵母の安定性の評価」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.17, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 5) 上田華奈子、森 絵美子、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「エタノール発酵過程におけるコーヒ酸エチルエステルの生成機構に関する検討」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.18, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 6) 酒井浩旭、長浜一弘、森村 茂、田口久貴、赤松 隆、木田建次、小川隆平、松岡正佳「燃料用エタノール製造のための乳酸・グルコース同時資化発酵性酵母の育種」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.18, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 7) 由布卓也、坂田康正、劉 凱、森村 茂、木田建次、長浜一弘、松岡正佳、小川隆平「竹からのバイオエタノール生産に向けた前処理方法の検討」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.19, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 8) 安 明哲、二宮嗣典、湯 岳琴、森村 茂、木田建次、赤松 隆、田口久貴、松岡正佳、小池洋潤「生ごみ同時糖化・発酵から排出される蒸留廃液の乾式および湿式メタン発酵の検討」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.21, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 9) 辻 麻里、安 明哲、湯 岳琴、森村 茂、木田建次、赤松 隆、田口久貴、松岡正佳、小池洋潤「市販酵素剤の活性評価とバイオエタノールの製造」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.21, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 10) 金中 淳、劉 凱、湯 岳琴、森村 茂、木田建次、四宮紀之、大庭 潔「甜菜ロージュースからの連続発酵によるバイオエタノールの製造」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.22, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 11) 宮井範裕、田口久貴、赤松 隆、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「乳酸資化性で耐酸性・耐熱性実用酵母の育種」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.26, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 12) 宮井範裕、田口久貴、赤松 隆、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「凝集性・耐酸性ヘテロタリズム一倍体実用酵母 KFG4-6B から非凝集性・同質遺伝子系統株の分離」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.26, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 13) 大埜恵理子、廣田正一郎、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「有明海干潟底泥における

- 微生物の 16S rRNA 遺伝子を標的とした人工巣穴設置効果の評価」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.31, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 14) 尾崎綾子、宮川博士、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「rRNA 遺伝子のスペーサー領域の塩基配列に基づく焼酎酵母の識別」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.31, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 15) 田中秀太郎、中川 育、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「細胞融合による耐酸性・耐熱性酵母の育種」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.32, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 16) 谷 健史、稲垣秀一郎、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「U937 細胞に対するコーヒー酸エチルエステルのアポトーシス誘導機構の解明」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.41, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 17) 田島圭祐、佐藤亮太、比嘉元紀、関 孝弘、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「HepG2 細胞に対するコーヒー酸エチルエステルの抗ラジカル活性に関する検討」第 14 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p.41, 長崎大学文教キャンパス (2007 年 12 月 1 日).
- 18) Takahiro Seki, Shigeru Morimura, Jun Fang, Yue-Qin Tang, Hiroshi Maeda and Kenji Kida.: “Immunostimulation and antitumor activity of shochu distilled residues” . International Conference on Food Factors for Health Promotion (ICOFF2007), 京都国際会議会館, 平成 19 年 11 月 27 日
- 19) Takahiro Seki, Shigeru Morimura, Xueyuan Cao, Tetsuya Tsukamoto, Masae Tatematsu, Kenji Kida and Hiroshi Maeda.:” Suppression of inflammation and carcinogenesis by a phenolic compound, canolol, obtained from crude rape seed oil” . 3rd International Conference on Polyphenols and Health (ICPH2007), 京都国際会議会館, 平成 19 年 11 月 25 日.
- 20) 森村 茂、関 孝弘、稲垣秀一郎、湯 岳琴、木田建次「食品産業副生物利活用のための機能性食品の変換」第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集 p. 24, 広島大学東広島キャンパス (2007 年 9 月 27 日).
- 21) 安 明哲、湯 岳琴、森村 茂、木田建次「海外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生産」第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集 p. 98, 広島大学東広島キャンパス (2007 年 9 月 25 日).
- 22) 酒井浩旭、赤松 隆、田口久貴、木田建次、小川隆平、長浜一弘、松岡正佳「バイオマス高効率発酵によるエタノール生産のための乳酸資化発酵性酵母の育種」第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集 p. 123, 広島大学東広島キャンパス (2007 年 9 月 26 日).
- 23) 西 崇史、木田建次、森村 茂、湯 岳琴、松井 徹「超高温メタン発酵プロセスの構築と微生物群集の解析」第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集 p. 176, 広島大学東広島キャンパス (2007 年 9 月 26 日).
- 24) 廣池優明、木田建次、森村 茂、湯 岳琴「天然ホルモンの嫌気分解および関与する微生物群集の解析」第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集 p. 176, 広島大学東広島キャンパス (2007 年 9 月 26 日).
- 25) 湯 岳琴、安 明哲、森村 茂、松岡正佳、赤松 隆、木田建次「同時糖化・発酵による生ごみからのバイオエタノールの生産」第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集 p. 198, 広島大学東広島キャンパス (2007 年 9 月 26 日).

- 26) 田口久貴、宮井範裕、湯 岳琴、森村 茂、木田建次、赤松 隆「遺伝交雑できるエタノール生産実用酵母の育種」第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集 p. 213, 広島大学東広島キャンパス (2007 年 9 月 26 日).
- 27) 宮井範裕、田口久貴、湯 岳琴、森村 茂、木田建次、赤松 隆「遺伝交雑できるエタノール生産実用酵母の耐酸性と耐熱性」第 59 回日本生物工学会大会講演要旨集 p. 214, 広島大学東広島キャンパス (2007 年 9 月 26 日).
- 28) 木田建次、森村 茂、湯 岳琴「白酒と焼酎の製造法及び成分の比較」第 4 回鹿児島大学焼酎学シンポジウム (第 4 回九州・四川 (中国) 食品・醸造シンポジウム、第 33 回日本応用糖質科学会九州支部大会合同大会) 講演要旨集, pp.16-26, 鹿児島大学稲盛会館 (2007 年 9 月 10 日).
- 29) 濱田康太郎、牧内貴子、松永正秀、末永貴史、永田 聡、森村 茂、木田建次「麦焼酎粕からの焼酎および醸造酢の製造のための実証試験」平成 19 年度日本醸造学会大会講演要旨集 p. 11, 北とぴあ (2007 年 9 月 5 日).
- 30) 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」平成 19 年度日本醸造学会大会講演要旨集 p. 16, 北とぴあ (2007 年 9 月 5 日).
- 31) 関 孝弘、森村 茂、方 軍、前田 浩「クマイ笹高温高圧抽出物の乳がん発がん予防活性」がん予防大会 in TOKYO 2007 (第 14 回日本がん予防学会), 学術総合センター (東京都千代田区一ツ橋 2-1-2), 平成 19 年 7 月 12 日 (木) ~13 日 (金).
- 32) 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).
- 33) 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).
- 34) 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) 図書

- 1) 図解バイオエタノール製造技術：編者社団法人アルコール協会、
発行所 工業調査会、2007 年 12 月 25 日
第 5 章第 2 節 糖蜜発酵廃液のメタン発酵
熊本大学大学院自然科学研究科工学系 木田建次
第 5 章第 3 節 デンプン質発酵廃液の処理および利活用
熊本大学大学院自然科学研究科 森村 茂
第 5 章第 4 節 セルロース系バイオマスの発酵廃液処理
熊本大学大学院自然科学研究科 湯 岳琴、安 明哲

平成 19 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～19 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) H19 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 17~18 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、クエン酸を炭素源として硝酸脱窒を行うコロニーを単離した。本細菌は PHB 粉末を単一炭素源とする Giltay 改変培地上にコロニーを生成し、その周辺には PHB 粉末の分解を示す透明なハローが認められた。また、コロニーを中心として培地全体に硝酸脱窒による pH 上昇を示す培地色の青変が認められた。さらに、PHB ペレットを単一炭素源とするダーラム管による脱窒試験で陽性を示した。以上から、単離細菌を PHB 資化性脱窒細菌と判定し、16S-rDNA 配列と生化学試験より *Ralstonia picketti* の近縁種と推定し、K2F 株命名した。

そこで H19 年度は、はじめに、回分実験を繰り返しながら硝酸濃度を上昇させることで、K2F 株の耐硝酸能および脱窒能を明らかにすることとした。次に、微生物付着担体に不織布を用いて単離細菌を保持する固定床型リアクターを作成し、PHB を炭素源および電子供与体とする連続硝酸性窒素除去リアクターの構築を最終目標として検討を行った。

2. H19 年度の研究成果

2.1 PHB を電子供与体とした繰り返し回分培養による K2F 株の硝酸脱窒能の評価

H18 年度には、クエン酸を炭素源として回分実験を行い、K2F の生育および硝酸脱窒能におよぼす温度および pH に関して検討した。その結果、K2F 株は、pH5.0~8.0、20~40℃の条件下で生育可能であり、30℃で、pH6.0~7.0 の条件下で最も良好な生育と高い硝酸脱窒能を示すことが明らかとなった。

そこで H19 年度は、pH5.0~pH8.0 の範囲で、PHB を炭素源および電子供与体に、硝酸を電子受容体として K2F 株の繰り返し回分培養実験を行った。また、回分実験を繰り返す際、段階的に硝酸濃度を上昇させ、K2F 株の耐硝酸能および除去（脱窒）能を明らかにすることとした。

2.1.1 実験方法概要

前培養は、クエン酸ナトリウムと硝酸カリウムを含む Giltay 液体培地で行った。回分実験用培地には、PHB ペレット 30 g を含む Giltay 改変培地を用いた。300ml 容三角フラスコにて Giltay 改変液体培地 200ml を作成したものを 2 系列準備し、各々初期 pH を 6.0 と 7.0 に調整した。これらに前培養液を 1% 植菌し、30℃、嫌気条件下で培養を行った。回分培養 1 回目の硝酸性窒素濃度は 200mg-N/l とし、硝酸、および亜硝酸の還元が認められた時点で新たに硝酸カリウムを添加し、2 回目の培養を行った。以後、同様の操作にて繰り返し培養を行いながら、硝酸添加濃度を段階的に増加させ、経時的に硝酸性窒素濃度、亜硝酸性窒素濃度、全有機体炭素濃度を測定して、各 pH 条件および硝酸濃度下での PHB の分解および脱窒能を調べた。

2.1.1 実験結果概要

Fig. 1、Fig. 2 に、各々 pH6.0 および pH7.0 での各回分実験における硝酸性窒素濃度、

亜硝酸性窒素濃度、及び溶存性有機物濃度 (Dissolved Organic Carbon: DOC) を示す。

Fig. 1 と Fig. 2 から明らかなように、いずれの pH 条件においても、1 回目の培養時には、硝酸添加後 1 週間～10 日後に、前培養液による持ち込み炭素源の影響と見られる約 100mg-N/l の濃度減少が認められた。また、DOC については、培養開始直後は持ち込み炭素源による DOC の残存が認められる。その後は DOC がほとんど無い状態が続き、約 10 日後に再び DOC の上昇が見られる。すなわち、この時点で PHB の分解に伴う DOC の溶出が推定され、硝酸性窒素の濃度減少はこの DOC 濃度の上昇後に起こっている。これらの結果は、PHB ペレットの溶解に約 2 週間を要し、炭素源 (電子供与体) の供給によって、K2F の生育と脱窒反応が急激に進んだことを示している。

pH6.0 の系では、2 回目の回分実験においても 200ml-N/l の硝酸性窒素の脱窒に約 2 週間を要しており、DOC の供給が律速になったものと考えられる。しかし、その後、急激な DOC 濃度の上昇が認められ、3 回目と 4 回目の回分時には、200mg-N/l の硝酸脱窒が約 1 日で終了した。そこで、硝酸性窒素の濃度を段階に上げていった結果、DOC は継続して存在し、一時的に 100mg-N/l 程度の亜硝酸濃度の上昇がみられたものの、最終的に 700mg/l の硝酸性窒素を約 1 日で脱窒可能であることが確認された。しかしながら、1000mg-N/l の硝酸性窒素添加時において、濃度減少速度は著しく低下し、かつ亜硝酸濃度の上昇がみられた。この原因は不明であるが、脱窒に必要な炭素源供給が行われなかった可能性が推定される。

これらの結果から、pH6.0 の条件においては、PHB 存在下で K2F 株を高濃度で維持することができれば、PHB 由来の炭素源供給に見合う脱窒が可能であり、700mg-N/l レベルの硝酸性窒素を 24 時間以内還元除去できる可能性が示された。

一方、pH7.0 の系でも同様に、600mg-N/l の硝酸性窒素を脱窒可能であったが、pH6.0 の系に比べると脱窒速度は遅く、亜硝酸性窒素濃度も高くなる傾向がみられた。昨年行った K2F 株の生育および脱窒能と pH の関係に関する検討でも、pH6.0 で最も良好な結果が得られており、今回の結果はそれを支持するものと言える。また、これまでに知られている PHB 分解酵素の最適 pH 値は pH5～10 までと非常に幅広いが、K2F 株の産生する PHB 分解酵素の指摘 pH 値は pH6 程度である可能性が高いと考えられる。

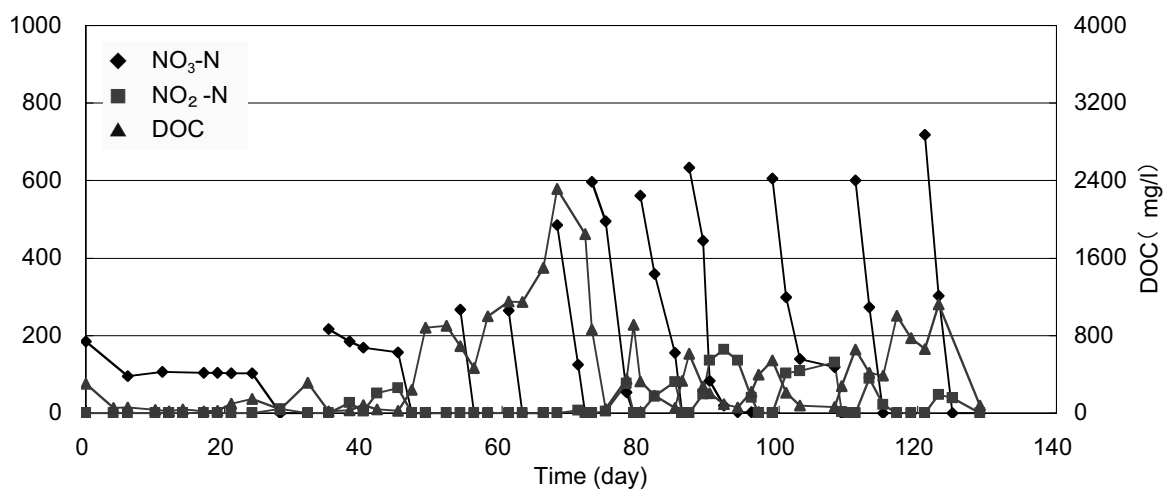


Fig. 1. Concentrations of NO₃-N, NO₂-N and DOC in every batch culture (pH6.0)

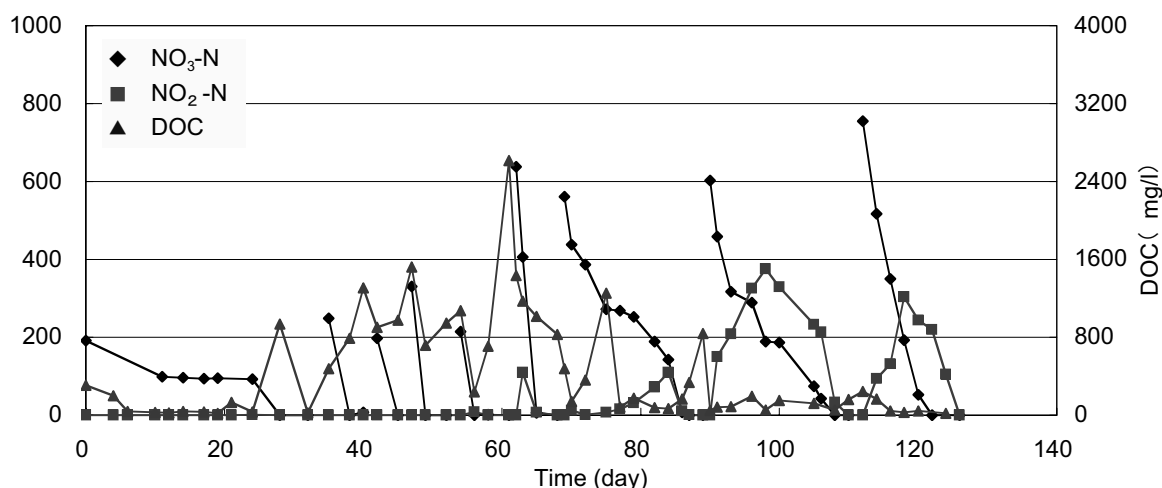


Fig. 2. Concentrations of NO₃-N, NO₂-N and DOC in every batch culture (pH7.0)

2.2 PHB を単一炭素源とする固定床型-硝酸性窒素除去リアクタの構築

2.2.1 実験方法概要

PHB を単一炭素源とする固定床型-硝酸性窒素除去リアクタの模式図を Fig. 3 に示す。連続実験を行うにあたり、はじめに作成したリアクタでは、100mg-N/l の硝酸性窒素を還元除去するのに数日を要し、さらに処理が安定しないなど、良好な結果を得ることができなかつた。これは、K2F 株を付着維持するための不織布担体と炭素源である PHB が離れていることで K2F 株への炭素源供給効率が悪化した可能性、また、PHB ペレットの攪拌が難しいためにリアクタ内での反応効率が低下した可能性、等が推定された。Fig. 3 のリアクタは、これら課題を改善したものである。

改善したリアクタでは、3L 容のガラス製タンク内に、不織布と PHB ペレットを一体化した円盤状微生物付着担体 7 セット (8.5g-PHB/円盤状担体) が取り付けられた攪拌棒を装備した。

はじめに、K2F 株の培養と不織布への付着固定化を目的として、300mg-N/l のクエン酸ナトリウムと 200mg-N/l の硝酸カリウムを含む Giltay 培地 1.2L (pH7.0) をリアクタに投入して 30°C、嫌気性条件下で前培養を行った。前培養を終了し、硝酸性窒素の消費を確認した後に、クエン酸を含まない Giltay 培地の流入・流出を開始し、連続実験を行った。

連続実験開始時における培地中硝酸性窒素濃度は 200mg-N/l とし、その後、段階的に濃度を増加した。また、温度は 30°C、HRT は 24 時間とした。適宜、処理水を採取して硝酸性窒素濃度、亜硝酸性窒素濃度、DOC 濃度を測定し、硝酸性窒素除去能 (脱窒能) を評価し、DOC との関係性を明らかにした。

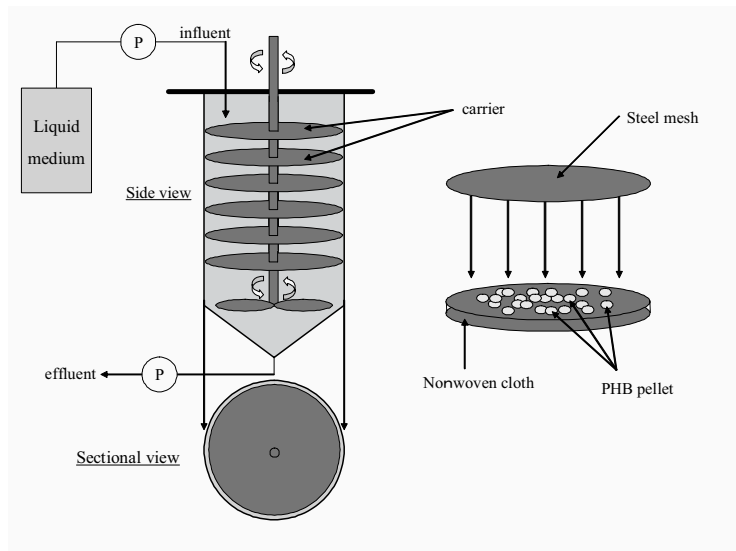


Fig. 3 Schematic diagram of PHB embedded packed non-woven-cloth Packed column reactor

2. 2. 2 実験結果概要

Fig. 4 に、流入水および流出水（処理水）中の硝酸性窒素、亜硝酸性窒素、および DOC 濃度の経時変化を示す。本実験では、連続実験前の馴養期間に約 30 日間の馴養期間を要し、その後、送液ポンプにより培地を流入、流出させ連続実験を開始した。流入水中の硝酸性窒素濃度は 50 mg/1 からはじめ、順次 50、100、150、200、250、300、400、550mg/1 と段階的に上昇させた。

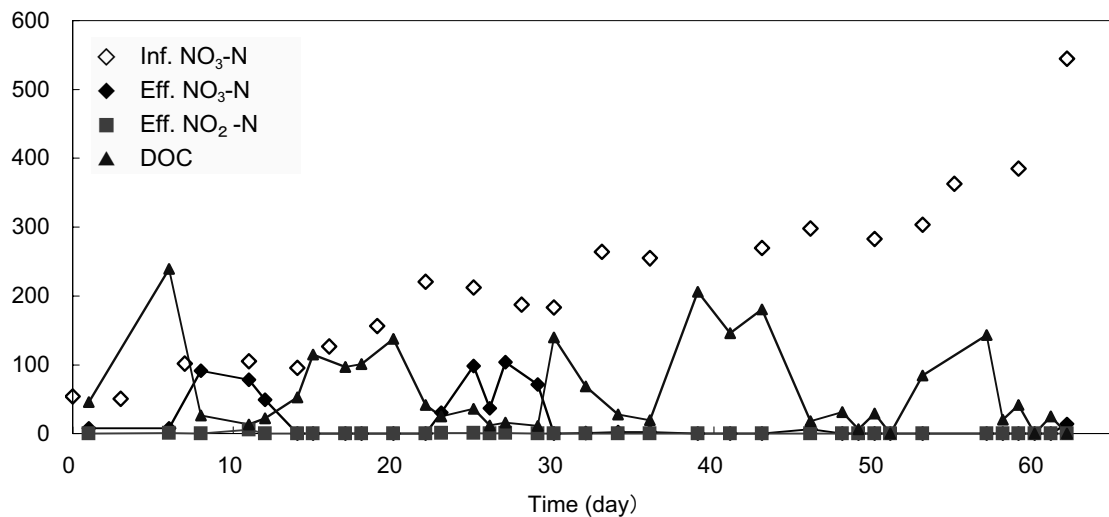
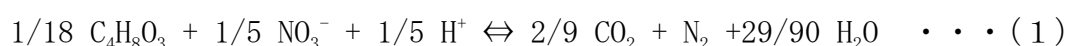


Fig.4. Time course of nitrogens and DOC concentrations in continuous semi-packed reactor

Fig.4 から明らかなように、馴養期間中に PHB 由来の DOC が十分に供給されていたこともあり、HRT24 時間で 50mg/1 の硝酸性窒素がすみやかに脱窒された。そこで硝酸性窒素濃度を 100mg-N/L に上げたところ、その直後に DOC の減少と硝酸性窒素の蓄積が見られた。しかしその後、硝酸性窒素濃度は再び減少し、一時的な硝酸性窒素濃度の蓄積が観察されたものの、最終的に 400mg-N/L の硝酸性窒素の除去が達成できた。この間、亜硝酸性窒素の残存・蓄積は見られず、硝酸性窒素の全量が窒素ガスに還元

されていることが分かった。

実験期間内の硝酸性窒素濃度の上昇と DOC 濃度との関係を見ると、硝酸性窒素濃度を 100mg/L 上昇させた場合に、培地中に残存している DOC の約 100~120mg/L が減少していることが分かる。この DOC の減少は K2F 株の増殖、および硝酸呼吸反応に利用されたことによると考えられる。ただし、この DOC の減少は一時的であり、硝酸性窒素の濃度上昇に呼応するかのように、再び DOC が増加し、硝酸性窒素が減少するといった挙動が明らかになった。K2F 株による PHB の分解代謝経路、DOC として培地中に溶出される中間代謝物については不明であるが、例えば PHB を DOC 成分と仮定して K2F 株のエネルギー代謝における電子供与体と考え、硝酸を電子受容体とすると、その酸化還元反応は、(1)式で示すことができる。(1)式から、炭素と窒素の比が 10:9 で反応することが分かり、上記 DOC の減少量と窒素除去量の関係を概ね説明できる。すなわち、硝酸性窒素濃度に対応する量 DOC がその還元のために消費されてエネルギーが生成し、細菌の増殖に寄与し、それが PHB の溶解を促進するといった反応の進行が推定される。



今後さらに長期間での連続実験を行い、硝酸性窒素と PHB の溶出量との関係を検証する必要はあるが、今回の連続実験の結果では、本リアクタでは、リアクタ内の硝酸性窒素量を脱窒するために必要な細菌の増殖とそれに見合う量以上の DOC の溶出が自動的に起こったと考えられる。すなわち、PHB の様な固体炭素源を用いたリアクタでは、特別なコントロールを必要とすることなく、硝酸性窒素の還元に必要な十分な DOC が細菌に供給され、安定した脱窒処理が行える可能性が示された。

筆者等は現在、浄水処理として、電気透析法による地下水中の硝酸性窒素除去を検討している。電気透析法では、少量ではあるが高濃度 (100mg/L~500mg/L) の硝酸性窒素を含む廃水が発生する。今回構築したリアクタは、維持管理が容易で、安定して数百 mg/L 濃度レベルの硝酸性窒素を除去可能であることが推定され、電気透析廃水の処理への適用が期待できる。さらに今後は、PHB の溶出速度と HRT との関係や脱窒速度とのバランスについてさらに詳細な検討を行い、上記、電気透析廃水のみならず、10~100mg-N/L の比較的低濃度の硝酸性窒素を含む地下水を直接高速に脱窒除去可能なプロセスの構築に向けて研究を進める予定である。

3. 成果の達成度

H18 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、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) が得られた。本年度は、さらに長期に渡る逐次回分実験を行って、K2F 株による高濃度の硝酸性窒素除去能を確認し、最終的に、生分解性プラスチックを炭素源とする連続脱窒リアクタを構築し、良好な結果とその有用性を明らかにすることができた。現在、これらの研究結果を論文にまとめており、本年度の成果は十分達成したものと考える。

4. 本研究に関連する H18 年度の研究費取得状況

(1) H19 年度取得状況

1) (財) 前田記念工学振興財団研究助成, 2007 年, 100 万円, 太陽光集光システ

ムと発光ダイオードを光源とする揮発性有機酸からの光合成水素生成に関する基礎的研究

- 2) 政策創造研究教育センタープロジェクト研究課題, 2007年～2009年, 180万円, 熊本流域での水循環保全とその健全な水利用に関する研究
- 3) 熊本市水道局, 2007年～2008年, 100万円, 熊本市水道水の『魅力』再発見事業

(2) H20年度申請状況

- 1) 学術振興会基盤研究C, 2008-2010年, 499万円, 海洋性アナモックス細菌の集積化と高濃度塩成分含有水からの窒素除去技術への応用
- 2) 財団法人発酵研究所平成20年度研究助成, 2008-2009年, 1,000万円, 低コストで二次汚染の少ない硝酸性窒素除去を可能にする生分解性プラスチックPHB(ポリ-β-ヒドロキシ酪酸)資化性脱窒細菌の単離とその工学技術への適用に関する研究
- 3) 財団法人 三菱財団自然科学研究助成, 2008年, 403万円, 海洋性 Anammox 細菌の探索と集積培養系の確立に関する研究

5. H19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, 古川憲治, 嫌気性水素発酵への固定床リアクタの適用に関する基礎的研究, 水, 嫌気性水素発酵への固定床リアクタの適用に関する基礎的研究, vol.49, 14-21 (2007)
- 2) 川越保徳, 日野なおえ, 中尾雅治, 藤本綾, 古川憲治, 連続水素発酵における炭素—窒素バランスの変化に対する細菌叢と水素生成能の応答, 環境工学研究論文集, vol.44, 605-612 (2007)

② 国際誌 (欧文)

- 1) Sen Qiao, Yingjun Cheng, Zhijun Liu, Yasunori Kawagoshi, Aya Fujimoto, Tohichiroh Koyama, Kenji Furukawa, Anammox treatment potential in an up-flow column reactor using a novel acrylic fiber biomass carrier, Journal of Water Treatment Biology, 43(1), 31-41 (2007)
- 2) 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., Journal of Korean Wetland Society, vol.9 (1), 123 – 131 (2007)
- 3) Masaharu Nakao, Yasunori Kawagoshi, Naoe Hino, Tomonori Iwasa, and Kenji Furukawa, Stable fermentation hydrogen production by polyvinyl alcohol (PVA) gel beads fluidized bed reactor., Journal of Korean Wetland Society, vol.9 (1), 115 – 121 (2007)

(2) 原著論文以外による発表

① 学会発表

(国際学会)

無し

(国内学会)

- 1) 川越保徳, 日野なおえ, 中尾雅治, 藤本綾, 古川憲治, 連続水素発酵における炭素—窒素バランスの変化に対する細菌叢と水素生成能の応答, 第 44 回環境工学研究フォーラム, 山口大学工学部 (2007 年 11 月 16 日~18 日), 環境工学研究論文集, vol.44, 605-612 (2007)
- 2) 矢裂大輔, 楠本良一, 中村安宏, 手柴一郎, 川越保徳, 負圧微細気泡—開水路型 3 床処理システムによる養豚排水処理, 日本水処理生物学会第 44 回大会, 日本水処理生物学会誌別巻第 27 号, P46 (2007)

② 特許状況

無し

平成19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～19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) H19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 ^3H (トリチウム) を用いた方法がある。 ^3H 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 ^3H 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 ^3H 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 ^3H 濃度が核実験前の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 濃度は規制前までほぼ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と言われている。しかしながら我が国においては、この 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これまで無かったため、昨年度分析手法を確立したのに引き続き、本年度は我が国における CFCs 法による地下水滞留時間推定のフィールド研究事例を増やすことで、その有効性の検討を行うことを目標とした。

2. H19年度の研究成果

(1) 入力として用いる大気中の CFCs 濃度の検討

わが国における現在の大気中の CFCs 濃度を評価するため、2007年6月、7月、11月の採水時に、熊本県不知火地域の大气濃度測定用の試料を採水した。試料は流域に一晩汲み置き、大気と平衡

状態にしておいた水を採水した後、採水地点の標高を基に平衡状態にあった時間の平均気温を算出し大気中の CFC s 濃度に換算した (図 1)。図には福岡市における大気中の CFCs のモニタリング結果も合せて示してあるが、北半球平均の CFCs 大気濃度と比較すると、大きく濃度が異なる年は少なく、ほぼ北半球平均に近い傾向が認められた。わが国における CFC s 測定には、人為的な汚染が殆ど存在していないような地域における大気濃度の長期観測はなく、不知火流域における大気濃度測定値や福岡市における観測結果から、滞留時間推定には 1 年～10 年程度の誤差は在りうるものの、北半球平均値を我が国での CFC s 入力値として充分利用することができるものと判断された。

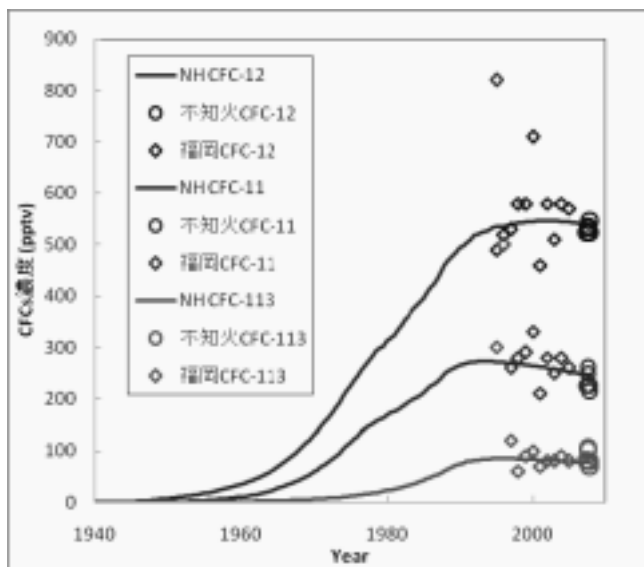


図 1 不知火流域および福岡市における大気中の CFCs 濃度

(2) 霧島地域における CFC s を用いた地下水・湧水の滞留時間評価

一般に地下水中の CFC s 濃度測定では、測定された試料水中の 3 種類のフロンの濃度からピストン流モデルによって推定した涵養年代が一つの特定の年代に一致することはまれである。逆にこの 3 つのフロンの濃度が特定年代の濃度に一致しないことを利用して、異なる水源から異なった滞留時間 (すなわち異なったフロンの濃度) を持つ地下水が混合して試料水のフロンの濃度を形成したものとして滞留時間を解析することができる。

霧島地域で採取された湧水の CFC s 濃度測定結果に対して、この方法によって滞留時間の解析を行い、図 2 および図 3 に示したような高標高湧水・低標高湧水を構成する 2 成分の涵養年代を算出した。

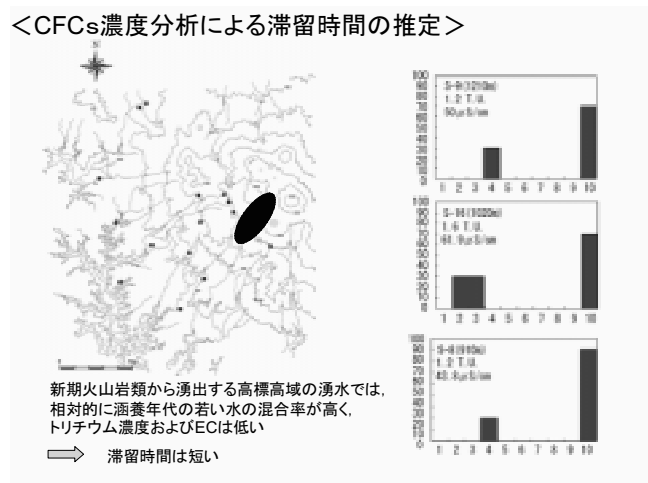


図 2. 高標高湧水の 2 成分涵養年代

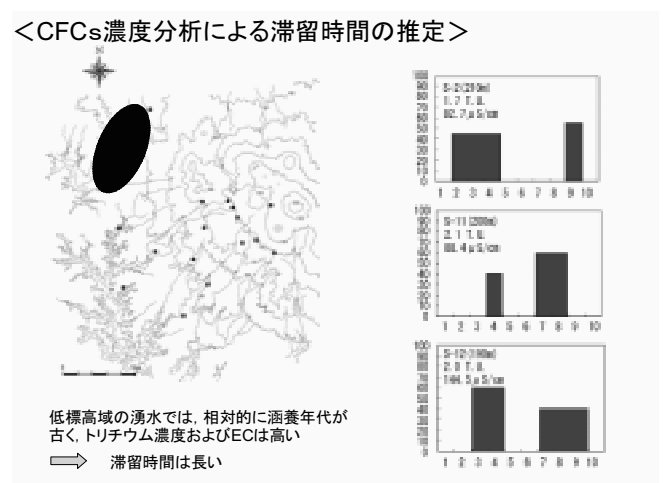


図 3. 低標高湧水の 2 成分の涵養年代

ここで、滞留時間は涵養年代として1963～2007年の間を4年毎に10段階に区分し、グラフの右側ほど若い年代を示している。グラフ中の2箇所の棒の位置は、構成している2成分の涵養年代を示し、構成年の混合率に応じて縦軸の長さが配分されるようになっている。高い混合率の涵養年代の方が相対的に多い割合で全体を構成していることを意味している。これらの図から、高標高湧水に比べて低標高湧水は明らかに滞留時間の長い古い涵養年代の地下水成分が卓越していることが示されており、湧水中の同位体比や溶存成分結果から読み取れる傾向と整合している。

3. H19年度の研究費取得状況

・科学研究費

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 2007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 2007年度共同研究、分担 4000千円、『都市の地下環境に残る人間活動の影響』

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 800千円

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 1件 (1000千円)

4. H19年度の研究発表

(1) 原著論文による発表

・ 国内誌 (和文)

- (1) 井川怜欧, 嶋田 純, 徳永朋祥, 後藤純治 (2007) : 富山湾周辺河川水の水文化学特性と湾への窒素負荷量の予察. 日本水文科学会誌 37(2), 55-66.
- (2) 石飛智念, 谷口真人, 嶋田 純 (2007) : 沿岸海底湧水量測定による塩淡水境界変動と地下水流出の評価. 地下水学会誌. 49 (3) , 191-204.
- (3) 山中 勤・田中 正・辻村真貴・大倉 博・清水英幸・吉谷純一・嶋田 純・開発一郎・近藤昭彦 (2008) : 国際高等教育協力における水問題・環境問題の認知構造. 水文・水資源学会誌, 21 (1) , 39-49.

- (4) 末田智也・大場和彦・丸山篤志・嶋田 純・中村啓二・高本尚彦・高野出恵 (2007) : 熊本県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評価. 九州の農業気象, 第II輯, 第16号, 1~8.
- (5) 末田智也・嶋田 純・高本尚彦・大場和彦・丸山篤志・中村啓二・高野出恵 (2007) : 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.
- (6) 末田智也・大場和彦・嶋田 純・小野昌彦・山宮和智(2007) : 比抵抗探査法を用いた作物群落下における土壌水分特性の把握. 九州の農業気象, 第II輯, 第16号, 81-82.

・ 国際誌 (欧文)

- (1) Mahara, Y., Habermehl, M. A., Jiyakawa, K., Shimada, J. and Mizuochi, Y. (2007): Can the ^4He clock be calibrated by ^{36}Cl for groundwater dating? Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 259, 536-546. Doi:10.1016/j.imb.2007.01.198
- (2) Shimada, J., Inoue, D., *et. al.* (2007): Basin-wide groundwater flow study in a volcanic low permeability bedrock aquifer with coastal submarine groundwater discharge. IAHS publication No.312, 75-85.
- (3) Taniguchi, M., Ishitobi, T., Burnett, W. and Shimada, J. (2007): Comprehensive evaluation of the groundwater-seawater interface and submarine groundwater discharge. IAHS publication No.312, 86-92.
- (4) Tokunaga, T., Kimura, Y. and Shimada, J. (2007): Existence of stagnant fresh groundwater and diffusion-limited chloride migration in a sub-sea formation at Yatsushiro Bay, Japan. IAHS publication No.312, 197-200.
- (5) Shimada, J., Murakami, M. and Tsuji, K. (2007): Integrated Groundwater Resources Management and Policy in Western Aso Mountain Foot Groundwater Basin. 四万十・流域圏学会誌, 6巻2号、47-54.

(2) 学会発表

- (1) 都城盆地における浅層地下水から深層地下水に至る過程で脱窒プロセスの検証. 日本地下水学会 2007 年度春季学術大会講演要旨. 2007 年 5 月 (三上、嶋田の共著)
- (2) 霞ヶ浦・銚子堆積物コア及びその間隙水による古水文解析. 日本地下水学会 2007 年度春季学術大会講演要旨. 2007 年 5 月 (高本、嶋田、徳永の共著)
- (3) 遊水地施工に伴って発見された縄文遺跡保存のための地下水環境解析. 日本地下水学会 2007 年度春季学術大会講演要旨. 2007 年 5 月 (龍田、嶋田他の共著)

ほか国内学会発表 15 件

- (1) Model estimation of stemflow contribution during rainfall-runoff process in a mountainous forested area. IAHS/IUGG Perugia Italy, 2007. 07, (R. Ikawa, J. Shimada, T. Shimizu)

- (2) Taniguchi, M., Ishitobi, T., Burnett, W. and Shimada, J. (2007): Comprehensive evaluation of the groundwater-seawater interface and submarine groundwater discharge. IAHS/IUGG Perugia Italy, 2007.07, (Taniguchi, M., Ishitobi, T., Burnett, W. and Shimada, J.)

ほか国外学会発表 9 件

5. その他H19年度における特筆すべき活動(国内外における依頼講演活動)

比抵抗探査方を用いた広葉樹林床土壌における樹幹流の影響把握と地下水涵養効果の評価

49回 土壤物理学学会シンポジウム. 九州大学 西新プラザ. 2007年10月13日

熊本地域における行政境界を越えた地下水資源管理. 日本地下水学会シンポジウム『環境新時代の地下水管理を考える』. 長野市, H19. 11. 2

熊本県の地下水保全の事例. 地下水シンポジウム08, 東近江市八日市アピアホール, 2008年 2月23日

The transboundary Management of Groundwater Resources in Kumamoto Area, Japan. Int' l Conf. on Sustainability Science for Watershed Landscapes. 13-14 Nov. 2007, East-West Cent., Univ. of Hawaii, Honolulu, Hawaii, USA (Invited speaker)

Transboundary Groundwater Management of Kumamoto Area, Japan- Sustainable Development of Groundwater Resources to support 700000 Resident' s city water-, Int' l Symposium and workshop on Current Problem in groundwater management and related water resources issues. 3-8 Dec.2007, Bali, Indonesia

ほか国内 3 件

6. H19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H20年度入学予定学生数(内訳)

H19年度: 4名(内留学生1名)

H20年度: 3名(進学生1名、国費留学生1名、社会人1名)

7. H20年度外部資金申請状況

- ・ 科研費基盤(A) 平成20年度～平成23年度、過去500年間の人間活動に伴う広域地下水流動変化の再構築、嶋田 純(代表) 他3名 50000千円
- ・ 科研費基盤(A) 平成20年度～平成23年度、アジア・オセアニア地域における広域地下水涵養量評価、谷口真人(代表)、嶋田 純(分担) 他4名 50000千円
- ・ 科研費基盤(B) 平成20年度～平成24年度、我が国における大気・地下水中のフロン濃度分布の解明、辻村真貴(代表)、嶋田 純(分担) 他4名 20000千円
- ・ 平和中島財団2008(平成20)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 19 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）H19 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。

2. H19 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の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、その実施に当たっての住民討論会などフォローアップ活動を実施した。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。

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、「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」、「熊本県測量設計・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. 20年度の目的・目標

環境、防災(減災)、環境と防災の調和、安心・安全で生き活きた地域社会づくり、を目標として19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. 19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俯瞰型再生と実証試験(19年度106,132千円).

②奨学寄付金

5件 10,008,320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」.

④平成19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俯瞰型再生と実証試験(20年度21,000千円).

2) 滝川清(代表). 基盤研究(A).平成20～23年度49,850(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. H19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)増田龍哉・滝川清・森本剣太郎・三迫陽介・古川恵太:”有明海熊本港周辺における「なぎさ線の回復」現地試験による生態系構築過程に関する研究”,海洋開発論文集, pp.525-530.,2007.7,

査読有

- 2)倉原義之介・森本剣太郎・滝川 清・増田龍哉・古川恵太：“人工潟湖干潟「野鳥の池」における生物生息環境の変遷と HEP モデルの導入”，海洋開発論文集，pp.483-488, 2007.7. 査読有
- 3)森本剣太郎・滝川 清：“防災・減災に向けた災害被災者の意識と向き合う姿勢”，海洋開発論文集，pp.243-248, 2007.7. 査読有
- 4)青山千春・滝川 清・秋元和實・園田吉弘：“魚群探知機を利用した海底・海中環境特性把握のための音響的観測手法確立に関する研究”，海洋開発論文集，第 23 巻,pp.549-554, 2007.7. 査読有
- 5)中村義文・福田治美・滝川 清・瀬口昌洋・大島 巖・堀川鎮史：“環境整備船「海輝」による有明海・八代海の環境調査計画の策定と調査結果”，海洋開発論文集，pp.597-p602, 2007.7. 査読有
- 6)園田吉弘・滝川 清・齋藤 孝：“有明海における生物生息環境の歴史的変動特性と海域の健康診断について”，海洋開発論文集，第 23 巻,pp.609-614, 2007.7. 査読有
- 7)滝川 清・松本聖治・堀田英一・柴田剛志・尾木陽子・園田吉弘：“有明海・八代海再生へのマスタープラン～熊本県の取り組み～”，海洋開発論文集，第 23 巻,pp.261-p266, 2007.7. 査読有
- 8)永尾謙太郎・滝川清・森本剣太郎・田淵幹修・芳川忍：“干潟域における熱収支過程のモデル化と現地適用性の検討”，海岸工学論文集，第 54 巻，pp.1141-1145, 2007.11, 査読有
- 9)増田龍哉・滝川 清・森本剣太郎・丸山 繁・木田建次・大久保貴仁：“有明海干潟海域環境改善へ向けた人工巣穴による底質改善技術の現地実証試験”，海岸工学論文集，第 54 巻，pp.1131-1135, 2007.11, 査読有
- 10)倉原義之介・古川恵太・森本剣太郎・増田龍哉・鐘ヶ江潤也・滝川 清：“干潟環境再生に向けた生物生息環境評価モデルの活用に関する検討”，海岸工学論文集，第 54 巻，pp.1401-1405, 2007.11 月，査読有
- 11)滝川 清・黒木淳博・増田龍哉・森本剣太郎・松永浩二・西尾 徹：“熊本県玉名横島海岸における防護と環境の調和を目指した新たな海岸保全技術の開発”，海岸工学論文集，第 54 巻，pp.1396-1400, 2007.11, 査読有
- 12)中村義文・吉田秀樹・滝川 清・瀬口昌洋・大島 巖・堀川鎮史：“環境整備船「海輝」で取得された有明・八代海の海域環境の特徴”，海岸工学論文集，第 54 巻，pp.1136-1140, 2007.11, 査読有
- 13)Kentarō Morimoto, Kiyoshi Takikawa, Tatsuya Masuda :” Field Study on Characteristic of Ecosystem over the Artificial Tidal Flat in Areake Sea”, Japan, Asian and Pacific Coasts) pp1948-1959,2007, September 21-24. (accept)

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・田中中和・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，田淵幹修：“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 巻，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 巻，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 巻，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 巻(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) 滝川清: “有明海・八代海の環境と防災、そして調和へのシステムづくり” 沿岸域学会誌, 日本沿岸域学会, Vol. 20 N01, pp. 48-51 (2007. 6)
- 2) 滝川清・齋藤信一郎・園田吉弘: “有明海・八代海の環境再生—熊本県のとりくみ” 閉鎖性海域の環境再生, 恒星社厚生閣, pp. 69-85 (2007. 10)
- 3) 滝川清・秋元和實・園田吉弘・増田龍哉: “有明海の海域環境の変動特性と再生方策” 生物研究社, 海洋と生物, N0173, vol, 29-No, 6, pp525-536 (2007. 12)
- 4) 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 18 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—(2007. 10)

② 学協会誌

- 1) 滝川清: “1999 年不知火海高潮災害の教訓と新たな高潮減災対策の策定”, 防災・環境ネットワークシンポジウム 2007・イン・ナガサキ” pp. 13-16 (2007. 8. 31)
- 2) 滝川清: “有明・八代海の環境再生と防災、そして環境との調和” 市民公開講座 有明海・八代海を科学する, くまもと県民交流館パレア, 59p, (2007.10.17)
- 3) 滝川清: “有明海・八代海の環境再生、そして防災との調和 “平成 19 年度 九州の農地海岸保全協会 研修会, 59p, (2007. 10. 18)
- 4) 滝川清: “文部科学省科学技術振興調整費 重要課題解決型研究第 3 回「有明海の再生へた現地試験」現地見学会 (熊本港、玉名横島) 82 名, 12p (2007. 10. 27)
- 5) 滝川清: “有明海の環境再生そして防災との調和 (㈱東京建設コンサルタント平成 19 年度九州支店技術検討会, 講演福岡市東京第 1 ホテル, 59p, (2007.11.10)
- 6) 滝川清: “「有明海の環境変遷と再生への取り組み」～文部科学省科学技術振興調整費 重要課題解決型研究, 第 3 回「有明海の再生」シンポジウム「有明海の再生に向けて～国・県・大学の試～」, 熊本大学百周年記念館, pp.1-38(2007.11.28)
- 7) 滝川清: “有明海・八代海の環境と防災、そして調和へのシステムづくり “第 17 回環境システム地域シンポジウム「有明海の環境改善に向けた広域環境管理によるアプローチ」, 熊本大学工学部百周年記念館, pp.10-15, 84 名, (2007.12.10)
- 8) 滝川清: “八代海の現状と再生のために “有明海・八代海セミナー in 八代海、講演および意見交換会コーディネーター, やつしろハーモニーホール, 150 名, 48p, (2008, 2, 2)

(3) 学会発表等 (今年度)

① 招待講演

- 1) 滝川清: 特定非営利法人 みらい有明・不知火平成 19 年度シンポジウム: 「有明海・八代海の防災と環境にかかわる研究成果の発表」メルパルク熊本 2006.6.14
- 2) 滝川清: “1999 年不知火海高潮災害の教訓と新たな高潮減災対策の策定”, 防災・環境ネットワークシンポジウム 2007・イン・ナガサキ” pp. 13-16 (2007. 8. 31)
- 3) 滝川清: “有明海の現状と再生のために”, 有明海・八代海再生セミナー in 有明海, 講演および意見交換会コーディネーター (2007.9.22)
有明海・八代海再生セミナー in 有明海, ながす未来館メディアルーム, 50 名, (2007, 9, 22)
- 4) 滝川清: “有明・八代海の環境再生と防災、そして環境との調和” 市民公開講座 有明海・八代海を科学する, くまもと県民交流館パレア, 59p, 47 人, (2007. 10. 17)
- 5) 滝川清: “有明海・八代海の環境再生、そして防災との調和 “平成 19 年度九州の農地海岸保全協会研修会, 59p, (2007. 10. 18)
- 6) 滝川清: “有明海の環境再生そして防災との調和 (㈱東京建設コンサルタント平成 19 年度九州支店技術検討会, 講演福岡市東京第 1 ホテル, 59p, (2007.11.10)
- 7) 滝川清: “「有明海の環境変遷と再生への取り組み」～文部科学省科学技術振興調整費 重要課題解決型研究第 3 回「有明海の再生」シンポジウム「有明海の再生に向けて～国・県・大

学の試〜」熊本大学百周年記念館(2007.11.28)

- 8) 滝川清:”有明海・八代海の環境と防災、そして調和へのシステムづくり “
第 17 回環境システム地域シンポジウム「有明海の環境改善に向けた広域環境管理によるアプローチ」, 熊本大学工学部百周年記念館, (2007.12.10)
- 9) 滝川清:” 八代海の現状と再生のために “,有明海・八代海セミナー in 八代海、講演および意見交換会コーディネーター,やつしろハーモニーホール, 150 名,(2008,2,2)

②一般講演

- 1) 黒木淳博・滝川 清・増田龍哉・森本剣太郎・松永浩二・西尾 徹: 海岸堤防前面における生物生息場創生技術の評価, 平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集(長崎), pp., (2008. 3. 8)
- 2) 原義之介・滝川 清・森本剣太郎・増田龍哉: 生物群を対象とした HSI モデルの改良 ～クラスター分析を用いた生物群分類の検討～, 平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集(長崎), pp., (2008. 3. 8)
- 3) 畑田紀和・滝川 清・増田龍哉・森本剣太郎: 熊本港東なぎさ線における優占種の空間分布特性に関する研究, 平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集(長崎), pp., (2008. 3. 8)
- 4) 清田政幸・滝川 清・森本剣太郎・矢北孝一: 干潟域における熱環境特性の把握に関する研究, 平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会公園概要集(長崎), p p., (2008. 3. 8)
- 5) 森田将任・滝川 清・森本剣太郎・増田龍哉: 有明海干潟域における生物生息環境特性に関する研究, 平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集(2008. 3. 8)
- 6) 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への提言, 平成 19 年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集(長崎), pp., (2008. 3. 8)

・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, 「海域底泥層の改善装置及びその方法」, 滝川清他 3 名

7. 平成 19 年度在籍の博士後期課程学生数

4 名 (社会人)

8. 平成 20 年度入学予定の博士後期課程学生数

1 名 (社会人)

9. 学会・研究会等の開催

- 1) 第 8 回干潟フェスタ: (滝川清教授実行委員長開催) 熊本港 親水緑地広場, 1247 人, 2007. 6. 2
- 2) 非定非営利法人 みらい有明・不知火平成 19 年度シンポジウム (滝川清理事長主催): 「有明海・八代海の防災と環境にかかわる研究成果の発表」メルパルク熊本、80 名、2006. 6. 14
- 3) 文部科学省科学技術振興調整費 重要課題解決型研究第 3 回「有明海の再生へた現地試験」現地見学会 (熊本港、玉名横島)、滝川清教授主催、82 名、(2007. 10. 27)
- 4) 「有明海の環境変遷と再生への取り組み」～文部科学省科学技術振興調整費 重要課題解決型研究第 3 回「有明海の再生」シンポジウム「有明海の再生に向けて～国・県・大学の試～」、滝川清教授主催、熊本大学百周年記念館、276 名、(2007. 11. 28)
- 5) “有明海・八代海の環境と防災、そして調和へのシステムづくり “、第 17 回環境システム地域シンポジウム: 「有明海の環境改善に向けた広域環境管理によるアプローチ」, 滝川清教授主催、日本土木学会環境システム委員会、84 名、熊本大学工学部百周年記念館, (2007. 12. 10)

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～19 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) H19 年度の目的・目標

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变化を明らかにする。
- ・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・空間的变化を明らかにする。
- ・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。

②時空間分布モデリング

- ・多変量地球統計学によって地下水位の時間的变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变化を考慮できるようにする。

③地磁気-地電流法・電気探査による断層構造のイメージング

- ・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。

2. H19 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、海域水質環境の解析

平成 17・18 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。干潟から採取した計 166 個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。本年度は、地質や粒径の相違に基づいて、衛星画像を適切に分類するための処理法を検討した。測定で得られた反射スペクトルの特徴を強調するために、ASTER 衛星データの近赤外～短波長赤外域における5つの観測波長帯の反射率に注目し、図1に示す比演算処理とカラー合成法を提案した。3月、6月、8月のシーンへの適用結果は図1のようである。白川右岸・左岸、緑川河口、御輿来に同じグループがまとまって分布し、季節的な変化が現れている。よって、リモートセンシングを活用した本手法は、地質的に類似した干潟堆積物の分布域とその時間的变化を抽出するのに有効であるといえる。

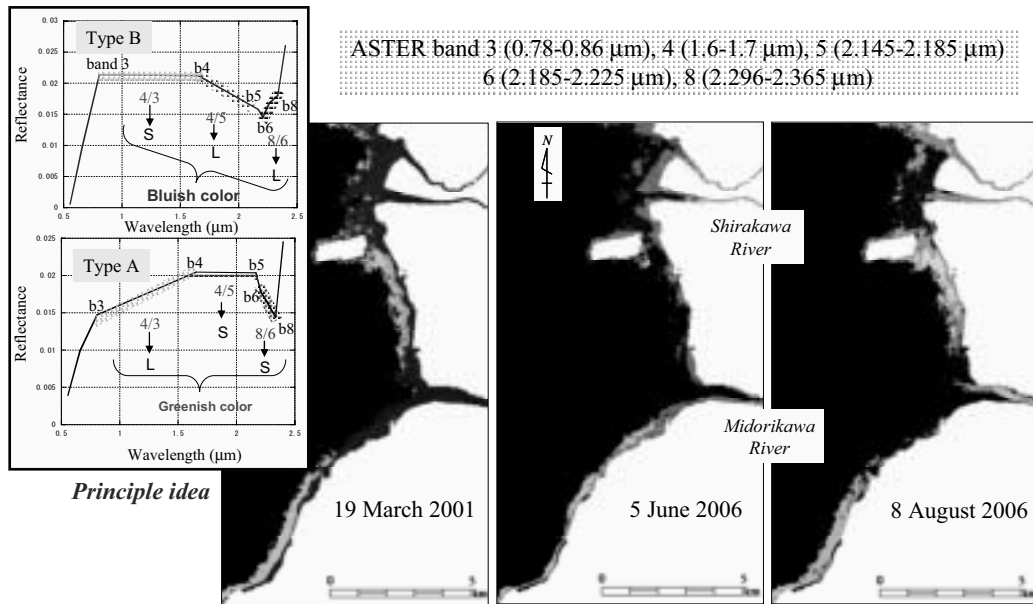


図1 ASTER データのバンド比演算処理に基づく画像分類(同じ色が地質的に類似した干潟堆積物の分布域を表す)

本年度は海域の水質環境にも注目し、有明海の湾奥の15地点で採取した海水試料の分光反射率測定を行い、衛星画像を用いたクロロフィル濃度と濁度の推定法についても検討した。分光反射率測定の結果、波長 $0.47 \mu\text{m}$ 付近と $0.76 \mu\text{m}$ 付近の吸収帯が試料に共通して現れ、これらはそれぞれクロロフィル、濁度に起因し、吸収の深さは概ね濃度に比例することが明らかとなった(図2)。この吸収帯を強調するためにLANDSAT TM/ETM+画像を用い、可視域～短波長赤外域のバンドの反射率を比演算や回帰モデルで組み合わせたとこ、クロロフィル濃度と濁度の妥当な推定分布が得られた。その一例である1996年4月5日のシーンに対する結果を図2に示すが、クロロフィル濃度は河口域よりも沖合で高いのに対して、濁度はその逆の分布傾向になっている。

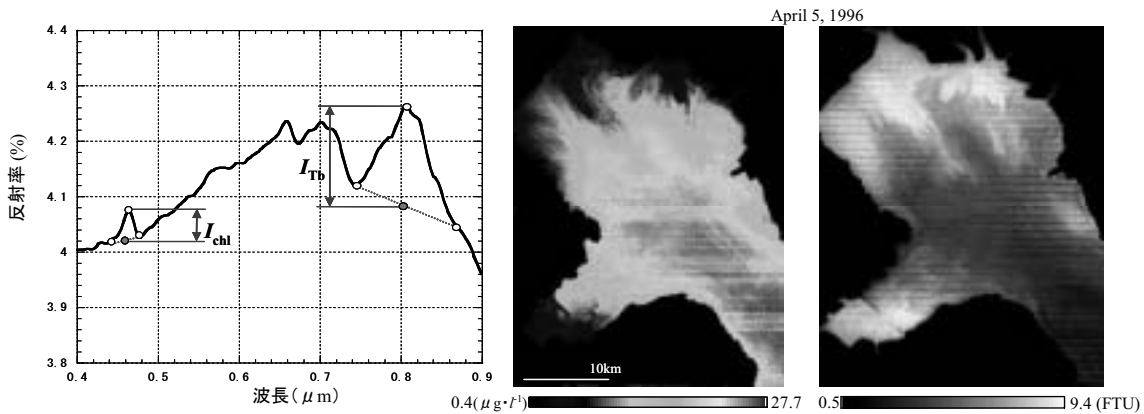


図2 クロロフィルと濁度に起因した海水試料反射率の吸収帯(左), およびクロロフィル濃度(中)と濁度(右)の推定分布

2.2. 透水性に関連した物性や地質構造の時空間モデリング

I. 地下水位と土地被覆変化との地球統計学的相関解析

熊本平野における地下水位の経年変化の要因を明らかにするために、熊本平野の13地点で得られた地下水位データの詳細な統計解析を行い、水位変化の地域的な特徴やトレンド成分の強弱について抽出した。土地被覆の種類が地下水位に及ぼす影響を正確に評価するために、地下水位データから降水量に関連するトレンド成分を相互回帰モデルによって除去し、残差成分の多変量地球統計学解析を行った。セミバリオグラム解析やco-krigingによる空間解析により、熊本平野の1979年から25年間において、土地被覆の変化に起因する地下水位の変化パターンが詳細に明らかになるとともに、土地被覆物質の各カテゴリーの影響の強さが比較できるようになった。

さらに、地下水位データのインバージョン解析によって表層地質の透水係数を求めた。透水係数分布の時間的変化を検討した結果、全体的な傾向に変化はないものの、地下水位の低下と調和して地下水涵養域での透水係数が減少していることが見出された(図3)。これは水田から市街域への変化により、降水の浸透速度が大きく減少することに起因している。

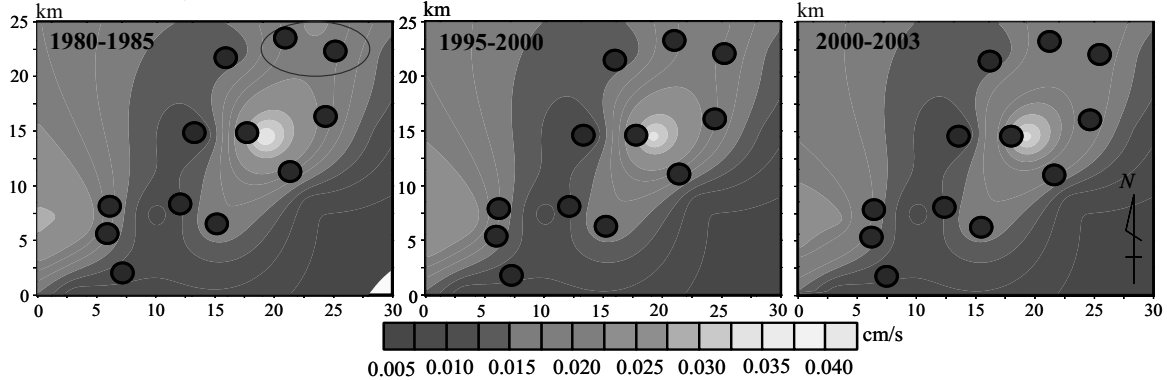


図3 熊本平野における地表面から地下水面までの見掛けの透水係数の時間的変化

II. 岩石亀裂分布の地球統計学的シミュレーション

地圏環境のあらゆる分野において、「水みち」と呼ばれる透水性の高いゾーンの抽出やその透水性の定量化、および流体流動の高精度予測は、ますます重要な課題となっている。そのために、鉱物粒子から岩体規模に至るマルチスケールでの亀裂分布を可能にする手法の開発を進めた。深層ボーリング調査により多くの亀裂データが得られている東濃地域を解析の対象に選んだ。

亀裂分布シミュレーションは、亀裂密度分布の算定、方位データの区分と空間的相関構造の抽出、亀裂中心点の発生と方位の割り当て、中心点間の距離と方位の類似性の基準による亀裂の連結、亀裂面の近似というステップからなる。シミュレーション結果の一例として褐色化亀裂に注目し、そのボーリング孔での位置付近を通り、長さ1 km以上という相対的に連続性の良い亀裂の分布を図4に表す。抽出された亀裂は領域南西部に集中し、その方向は東北東が最も卓越し、北北西がそれに次ぐことが明らかである。亀裂の褐色化は酸化性の地表水と岩石との反応によって形成される鉄酸化・水酸化物として観察されることから、この亀裂が密集するゾーンは、地表から地下深部まで連続し、かつ高い透水性構造として機能している可能性が高い。電気検層による比抵抗の推定分布と長さ1 km以上のシミュレーション亀裂を図5で重ね合わせるが、比抵抗の急変部に亀裂が存在し、それらの方向も調和的であることがわかる。領域南西部に分布する亀裂は上記の褐色化亀裂にも対応するので、よりの確に透水性の高いゾーンを抽出できると考えられる。

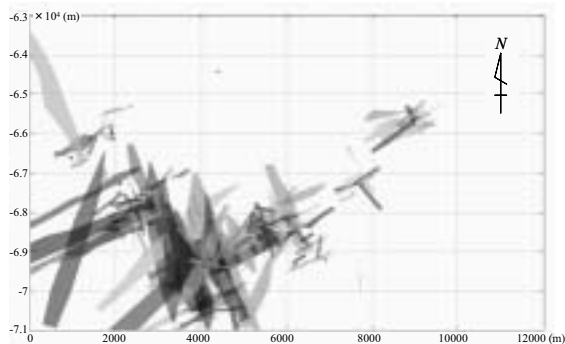


図4 1 km以上の連続性をもつ褐色化亀裂の推定分布

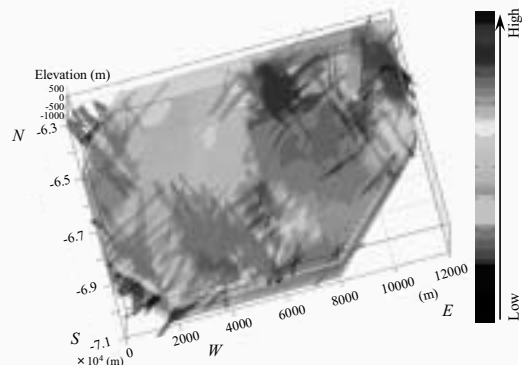


図5 比抵抗分布とシミュレーション亀裂の重ね合わせ

2.3. 電気探査による沿岸域での塩淡境界と断層の検出

沿岸域の地質構造の把握は、塩淡境界の特定、および地下水湧出による栄養塩負荷の評価において重要である。そこで、「断層」に焦点を当て、沿岸域での電気探査の適用によって、陸域と海

域での断層の連続性と地下水湧出経路について検討した。測定では、Syscal 社の大電流発生装置である VIP-3000 と電気探査装置 ELREC6 を用い、dipole-dipole 法により水平探査を行った。

有明海では海底電気探査を 2005 年 12 月に、4 本の総延長 14 km の測線を実施した。そのうち、宇土市御輿来の沖合の測線には、活断層に起因するような比抵抗の不連続分布が現れた。「日本の活断層」には、この延長の山地に上網田断層が記載されている。そこで、御輿来海岸の干潟上で、上網田断層の方向と海底電気探査による比抵抗不連続点を結ぶ位置を中心とし、推定断層にできるだけ直交するように 150 m の測線を設置した。測定とインバージョン解析によって得られた比抵抗分布 (図 6) は、ほぼ水平な多層構造と近似でき、深度 5 m と 20 m 付近に明瞭な比抵抗境界が存在する。また、測線中央部に周囲よりもやや高い比抵抗が垂直方向に連続する点も特徴的である。この比抵抗分布の 1 つの解釈を図 6 で表すが、水平方向の比抵抗境界は塩淡水境界面であり、測線中央のやや高い比抵抗ゾーンは、断層に沿った地下水の湧出経路を表しているとも考えられる。ゆえに、陸域と海域での断層の連続性が推測できた。

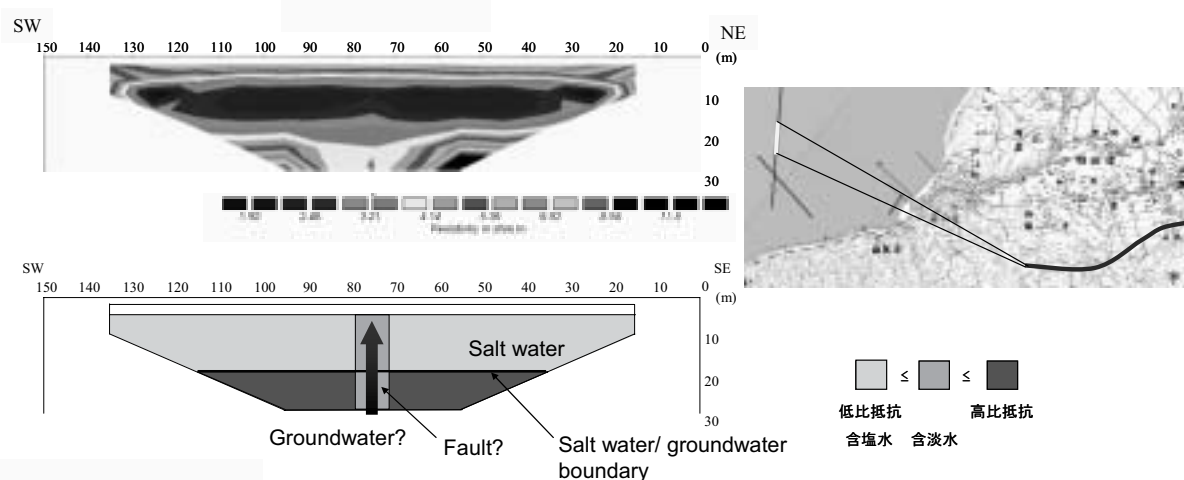


図 6 御輿来海岸で実施した電気探査による比抵抗分布とその解釈図(左), および上網田断層と測線の位置関係

3. 成果の達成度

3 つのサブテーマともに平成 18 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。前年度の海底電気探査に加えて沿岸域電気探査という新たな計測方法についても有明海に適用でき、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 19 年度の目的・目標に関してほぼ達成できたと考えられる。今後さらにリモートセンシング、時空間分布モデリング、応用地球物理による水域・地圏環境の研究を発展させたい。

4. H19 年度の研究費取得状況

- ・科学研究費 基盤研究 B (代表) : 2,000 千円 [継続]
- ・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 [継続]
- ・(財)日本鉱業振興会試験研究 (代表) : 700 千円 [継続]
- ・寄附金: 民間企業・(社)資源・素材学会より, 計 4,500 千円
- ・共同研究費: 国立極地研・京都大学防災研 (分担), 計 200 千円

5. H19 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)

小池克明・劉 春学 (2007) スケール則を考慮した空間分布推定法と多孔質材料の空隙分布シミュ

レーションへの応用, 情報地質, vol. 18, no. 3, p. 159-175.

麻植久史・小池克明・吉永 徹・高倉伸一 (2007) 布田川一日奈久断層帯の深部比抵抗構造のイメージングと微小地震分布からの考察, 応用地質, vol. 48, no. 4, p. 180-191.

・国際誌 (欧文)

Liu, C. and Koike, K. (2007) Extending Multivariate Space-time Geostatistics for Environmental Data Analysis, *Mathematical Geology*, vol. 39, no. 3, p. 289-305 (doi:10.1007/s11004-007-9085-2007).

Teng, Y. and Koike, K. (2007) Three-dimensional Imaging of a Geothermal System Using Temperature and Geological Models Derived from a Well-Log Dataset, *Geothermics*, vol. 36, no. 6, p. 518-538 (doi:10.1016/j.geothermics.2007.07.006).

Heriawan, M. N. and Koike, K. (2008) Identifying Spatial Heterogeneity of Coal Resource Quality in a Multilayer Coal Deposit by Multivariate Geostatistics, *International Journal of Coal Geology*, vol. 73, nos. 3-4, p. 307-330 (doi:10.1016/j.coal.2007.07.005).

Moukana, J. A. and Koike, K. (2008) Geostatistical Model for Correlating Declining Groundwater Levels with Changes in Land Cover Detected from Analyses of Satellite Images, *Computers & Geosciences* (in press, doi: 10.1016/j.cageo.2007.11.005).

Koike, K., Yoshinaga, T., and Asaue, H. (2008) Radon Concentrations in Soil Gas Considering Radioactive Equilibrium Conditions with Application to Estimating Fault-Zone Geometry, *Environmental Geology* (accepted)

【国際会議プロシーディング】

Heriawan, M. N. and Koike, K. (2007) Correlating spatial model of coal quality with coal microstructures detected from X-ray CT image analysis, *Proc. IAMG'07- Geomathematics and GIS Analysis of Resources, Environment and Hazards*, Beijing, China, Aug. 26-31, 2007, p. 86-89.

Masoud, A., Koike, K., and Teng, Y. (2007) Geothermal reservoir characterization integrating spatial GIS models of temperature, geology, and fractures, *Proc. IAMG'07*, p. 176-180.

Koike, K., Oda, Y., Yoshinaga, T., Liu, C., and Yamada, F. (2007) Geological zoning of tideland sediments by a combination of sample reflectance and satellite remote sensing, *Proc. IAMG'07*, p. 469-472.

Moukana J. A. and Koike, K. (2007) Spatio-temporal modeling of groundwater levels and hydraulic conductivity with relation to land cover changes, *Proc. IAMG'07*, p. 473-476.

Liu, C. and Koike, K. (2007) Multi-scale spatial simulation of rock pores by geostatistics with a scaling law, *Proc. IAMG'07*, p. 569-572.

Saepuloh, A., Koike, K., and Prihadi, S. (2007) Accurate detection and mapping of altered minerals by optical remote sensing for an active volcano in the torrid zone, *Proc. 5th Int. Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, Dec. 3-4, p. 149-156.

他 3 件

(2) 原著論文以外による発表

正路徹也・小池克明 (2007) 講座「地球統計学」：クリギング：誤差を考慮した空間データの補間, *日本地熱学会誌*, vol. 29, no. 4, p. 183-194.

小池克明・正路徹也: 講座「地球統計学」：地球統計学的シミュレーションの基礎と応用, *日本地熱学会誌*, vol. 30, no. 1, p. 23-35.

他 2 件

(3) 学会発表

小池克明・藤 云・Alaa Masoud (2007) 地質・温度分布のモデリングと透水性の逆解析への応用, *情報地質*, vol. 18, no. 2, p. 86-87.

御園生敏治・小池克明・嶋田純・吉永徹・井上誠・高岡秀朋・麻植久史 (2007) 海底電気探査による海底表層地質構造のイメージング, *情報地質*, vol. 18, no. 2, p. 98-99.

Moukana, J. A. and Koike, K. (2007) Estimating hydraulic parameters by sequential Gaussian simulation for groundwater flow modeling, *情報地質*, vol. 18, no. 2, p. 100-101.

Moukana, J. A. and Koike, K. (2007) Influence assessment of land cover changes on groundwater levels using multivariate geostatistics, *情報地質*, vol. 18, no. 2, p. 102-103.

小田祐也・吉永徹・小池克明・山田文彦 (2007) リモートセンシングによる干潟堆積物の地質情報抽出, *情報地質*, vol. 18, no. 2, p. 120-121.

小池克明・劉春学 (2007) ボーリングデータを用いた地質構造・物性の広域的空間モデリング：東濃地域における亀裂分布に注目したケーススタディ, *資源・素材 2007 (名古屋) 企画発表・一般発表(A)(B)講演資料*, p. 273-274.

小池克明・劉 春学・天野健治・栗原 新 (2008) 透水性構造抽出のための亀裂分布モデリング, *資源・素材学会春季大会講演集(I)資源編*. 他 6 件

平成19年度研究成果報告

研究課題名：高速に環境汚染性イオンを捕集する繊維状吸着剤の開発と応用

所属・氏名：大学院自然科学研究科産業創造工学専攻・城 昭典

1. 研究目的・目標

(1) H15年度～21年度における目的・目標

キレート樹脂・イオン交換樹脂は各種金属イオンならびに陰イオンの選択的捕集に広い範囲で使用されているが、工業的規模の分離に用いる粒状樹脂は、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・イオン交換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。

本研究では環境汚染性の金属イオン・陰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100倍以上高速で、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・陰イオン交換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・陰イオン交換繊維は希薄な有害金属イオン・陰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が大きい。さらに、金属イオン・陰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。

(2) H19年度の目的・目標

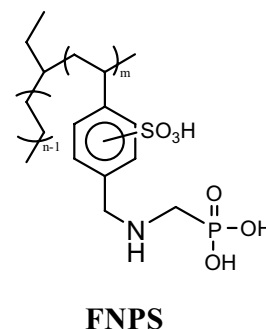
平成19年度に開発したアミノメチルホスホン酸とスルホン酸を官能基とする二官能性キレート繊維(FNPS)の誘導結合プラズマ原子発光スペクトル法(ICP-AES法)による金属イオン分析における前段濃縮への応用を行うとともに、水中の硝酸イオンを迅速に吸着する繊維状吸着剤の開発とその性能評価を目標とした。

2. 平成19年度の研究成果

① 二官能性キレート繊維(FNPS)のICP-AES法による金属イオン分析における前段濃縮への応用

誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS法)はICP-AES法に比べて超高感度である。しかし、装置が高価であるほか、装置の維持・管理に専門家を要する。また、超高感度であるために信頼性ある結果を得るためには、器具・試薬への厳格な汚染対策が必要であり、装置自体も清浄なクリーンルームなどに設置する必要がある。標的イオンを高選択的に迅速に捕捉して溶離も可能な吸着剤を用いて、ICP-AES法の検出下限以下の標的イオンを100倍以上に濃縮できれば、ICP-AES法の感度と精度の向上に資するところ大であるのみならず、ICP-MS法における試料の前処理にも利用可能と期待できる。

本年度は、前年度に合成したスルホン酸とアミノメチルホスホン酸を有するキレート繊維(FNPS)のCu(II)の高速吸着性について検討するとともに、sub-ppmレベルのCu(II)の高速濃縮への応用について検討した。FNPSの詳細な性質は既に報告したが、窒素、リンならびに硫黄含量は、それぞれ1.5, 2.8ならびに1.0 mmol/gであり、その最大の陽イオン交換容量を表す酸容量は6.0 meq/gである。FCSP充填カラムにCu(II)の6.4 ppm (0.10 mM) 溶液を空間速度(SV) 1000~7000 h⁻¹で通液した場合のCu(II)の破過曲線をFig. 1に示す。縦軸におけるC/C₀はカラム流出液中のCu(II)濃度(C)とカラムへの供給液中のCu(II)濃度(C₀)の比を示す。C/C₀が0.05に達する点すなわち5%破過点はSV



7000 h⁻¹の高速通液条件下でも1800 bed volumesに近く、この繊維が極めて迅速な吸着速度を有していることが判る。Table 1にCu(II)の吸着量の供給液の通液速度への依存性に関する数値的な結果を要約した。5%破過容量は通液速度の増加とともに若干減少しているが、空間速度7000 h⁻¹でも0.756~0.800 mmol/gにも達する値を示した。

次に、0.1 ppmのCu(II)溶液1 Lを2000 h⁻¹で通液して吸着させて、1 M 塩酸で溶離したところ定量的に回収可能で最大濃縮率は200倍程度となり、検出下限レベルのCu(II)の高速濃縮が可能であった。カラム内のFNPSの体積を2.0 mLにした場合、空間速度2000 h⁻¹で1 Lの溶液を通液するのに要する時間は15 minである。河川水、湖沼水、海水などの天然水中の主要金属イオンであるCa(II), Mg(II)ならびにNa(I)がppm単位で10倍存在していても、Cu(II)の濃縮にはほとんど影響しなかった。さらに、別途開発した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FCSISによるFe(III)の高速濃縮を検討したところ、0.1 ppmのFe(III)を500倍程度に高速濃縮することが可能であることが判った。以上により、FNPSなどの二官能性キレート繊維がsub-ppmレベルの金属イオン分析の感度向上に有用であるとの見通しが得られた。

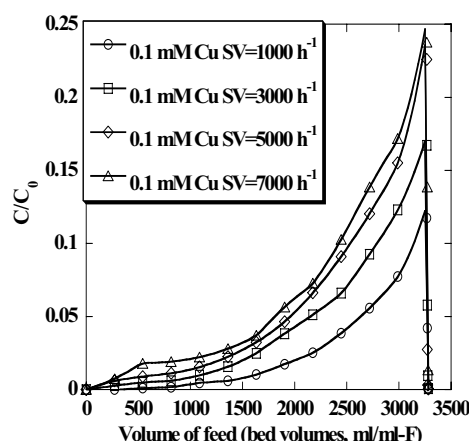


Fig. 1 Breakthrough profiles of Cu(II). Column: 1.8 mL of wet FNCS (Dry weight 0.40 g). Feed: 0.1 mM Cu(NO₃)₂, pH 2.

Table 1 Summary of effect of flow rates of feed on uptake of Cu(II)

Flow rate of feed SV, h ⁻¹	5%-Breakthrough point mL/mL-F	5%-breakthrough capacity mmol/g-F	Total uptake mmol/g	Amount eluted Mmol/g	Recovery %
1000	2520	1.08	1.36	1.46	107
1000	2630	1.25	1.51	1.64	109
3000	2120	1.04	1.51	1.57	104
3000	2150	1.05	1.51	1.57	104
5000	1900	0.911	1.46	1.54	105
5000	1960	0.922	1.44	1.58	110
7000	1750	0.756	1.31	1.37	105
7000	1800	0.800	1.33	1.45	109

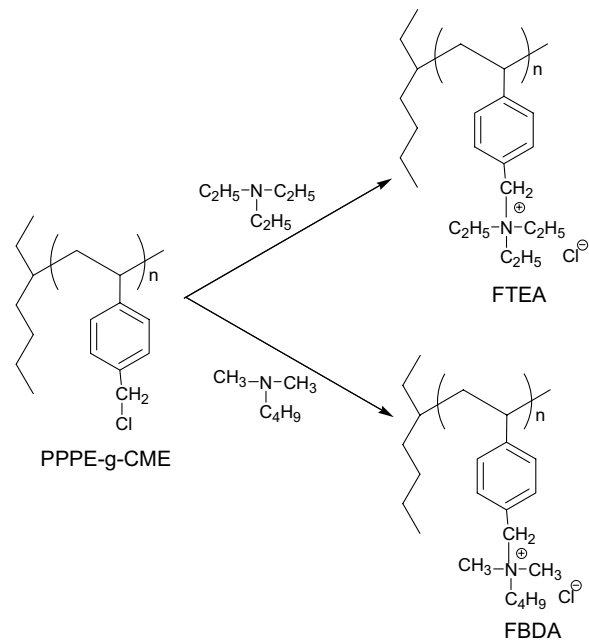
For detailed conditions, refer to captions of Fig. 1.

② 硝酸イオンを高速に吸着する陰イオン交換繊維の開発

硝酸イオンはメトヘモグロビン血症の原因となるほか湖沼の富栄養化においても問題であり、水から硝酸イオンを除去する技術を開発することは重要である。水中の硝酸イオンを除去する方法として、イオン交換法、逆浸透膜法、電気透析法、生物学的法、触媒脱窒法などがある。なかでもイオン交換法は水中の硝酸イオンを除去する方法として、他の方法よりも簡単な操作で硝酸イオンを濃度0まで除去可能との特色を有する。最近、イオン交換樹脂より吸着速度が迅速なイオン交換繊維が注目されている。本研究では化学的に安定なポリオレフィン繊維（ポリエチレンで被覆されたポリプロピレン繊維、PPPEと略記、繊維径1.5 denier）に電子線を照射してPPPEにラジカルを発生させクロロメチルスチレン(CMS)をグラフト重合して得た前駆体 PPPE-g-CMSと三級アミンを反応させて、強塩基性陰イオン交換繊維を合成した。具体的にはPPPEにCMSが基体繊維と同重量グラフト重合されたPPPE-g-CMSをトリエチルアミン(TEA)ならびにN-n-ブチルジメチルアミン(BDA)と80℃で5時間反応させ、それぞれFTEAとFBDAと命名した陰イオン

交換繊維を合成した (Scheme 1)。FTEA と FBDA の FT-IR スペクトルでは、前駆体 PPPE-g-CMS にみられた 1300 cm^{-1} 付近の $-\text{CH}_2\text{Cl}$ の吸収バンドが消え、元素分析により FTEA では 2.0 mmol/g の、FBDA では 2.2 mmol/g の窒素が検出されたことにより 4 級化が起こったことを確認した。さらに、 Cl^- を NaNO_3 溶液で溶離して求めた陰イオン交換容量も窒素含量とほぼ一致した。直径 1.3 cm のポリエチレンカラムに Cl^- 形の FTEA (乾燥重量 0.40 g 、湿潤体積 1.9 mL) ならびに FBDA (乾燥重量 0.41 g 、湿潤体積 2.0 mL) を充填し、 NO_3^- 吸着特性評価のためのカラムを作成した。これらのカラムに、吸着用溶液の組成と通液速度を種々変えて通液し、カラム流出液を分画採取し、各分画液中のイオン組成をイオンクロマトグラフ法で測定して NO_3^- の破過曲線を求めた。 NO_3^- の吸着に及ぼす通液速度依存性を評価した結果の例として、Fig. 2 に FBDA 充填カラムに 1.0 mM NaNO_3 溶液を空間速度 (SV) $1000 \sim 3000\text{ h}^{-1}$ で通液した場合の NO_3^- の破過曲線を示す。この図より NO_3^- が吸着されると当量の Cl^- が溶出されていることが判る。また、イオン交換反応が通液速度に依存しておらずイオン交換速度が極めて迅速であることも理解できる。Fig. 3 に 36 ppm (1 mM) ならびに 180 ppm (5 mM) の Cl^- が共存する 62 ppm NO_3^- (1 mM) 溶液ならびに 48 ppm (0.5 mM) または 96 ppm (1 mM) の SO_4^{2-} が共存する 62 ppm NO_3^- (1 mM) 溶液を空間速度 1000 h^{-1} で通液した場合の NO_3^- の破過曲線を示す。

Figs. 2と3を比較すると、等モル濃度の Cl^- の妨害は少ないが、5倍モルの Cl^- の妨害は0.5倍モルの SO_4^{2-} の妨害より若干少ないことが理解できる。等モルの SO_4^{2-} はかなりの妨害を示しているの



Scheme 1 Preparation of strong-base anion-exchange fibers FTEA and FBDA

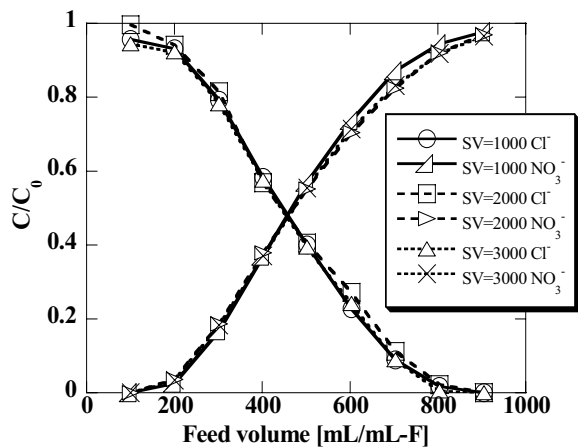


Fig. 2 Effect of flow rates of a feed on breakthrough profiles of NO_3^- . Column: FBDA (2.0 mL in wet state, 0.4 g in dry state). Feed: 1.0 mM NaNO_3 .

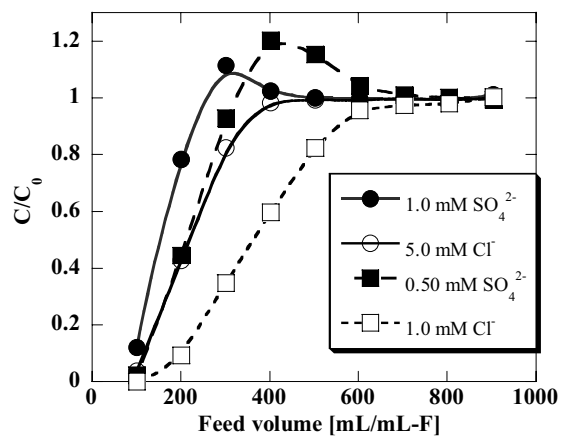


Fig. 3 Effect of Cl^- and SO_4^{2-} on uptake of NO_3^- . Feed: 1.0 mM NaNO_3 in the presence of Cl^- or SO_4^{2-} . Flow rate of feed: 1000 h^{-1} . For the column, refer to Fig. 2.

みならず、 SO_4^{2-} の共存下では NO_3^- の C/C_0 の値が1より大きくなっている領域がある。これは通液初期の段階に吸着された NO_3^- がより高選択的に吸着される SO_4^{2-} によって置換溶離されていることを示している。従って、FBDAの陰イオン選択性の序列が $\text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^-$ であり、 SO_4^{2-} の妨害は大きい、世界の河川の平均の Cl^- と SO_4^{2-} の濃度はそれぞれ6.0 ppm (0.17 mM)と8.7 ppm(0.091 mM)であることを考慮すると、両陰イオン交換繊維は河川水などの硝酸性窒素の迅速除去に有効と期待される。

3. 成果の達成度

平成19年度は、昨年度開発したスルホン酸とアミノメチルホスホン酸を有するキレート繊維(FNPS)がCu(II)などの2価イオンについては、空間速度7000 h^{-1} という高速通液条件下でも5%破過容量が約0.8 meq/gにも及ぶことを明らかにできた。線速度は4cm/sであり、これは溶液が1秒間に繊維床の長さの2.6倍進む流速である。従って、この繊維は2価金属イオンの高速濃縮への応用が有望である。FNPSのFe(III)の吸着性も評価したが、FNPSはFe(III)を迅速に吸着しなかったほか、In(III)、Ga(III)の吸着性もイミノ二酢酸とスルホン酸基を有する繊維(FCSIS)よりも吸着速度が遅い傾向が認められた。3価の金属イオンについてはFCSISが迅速な吸着速度を有することが判った。硝酸イオン吸着用の繊維FTEAならびにFBDAについては、本年度から研究を開始したが空間速度3000 h^{-1} まで、破過曲線形状が通液速度に依存しない結果が得られたので速度面では満足な成果を得ることができた。

4. 平成18年度の研究費取得状況

三井金属鉱業株式会社との共同研究、2007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

5. 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)

なし

国内誌 (英文)

- 1) Akinori Jyo, Yuko Hamabe, Yo Nawata, Kazunori Yamabe, and Manabu Sugimoto, **Metal Ion Selectivity of Bifunctional Cation Exchange Resins Containing Phosphonate and Sulfonate Derived from Crosslinked Chloromethylstyrene-styrene Copolymer Beads**, *Journal of Ion Exchange*, **18**(4), 198-203(2007).
- 2) Md. R. Awual, Shinya Urata, Akinori Jyo, Masao Tamada, and A. Katakai **Zirconium(IV) Loaded Bifunctional Fiber Containing Both Phosphonate and Sulfonate as Arsenate Adsorbent**, *Journal of Ion Exchange*, **18**(4), 422-427(2007).

② 国際誌 (欧文)

- 1) Danish J. Malik, Andrzej W. Trochimczuk, Akinori Jyo, and Wodzimierz Tylus, **Synthesis and Characterization of Nanostructured Carbons with Controlled Porosity Prepared from Sulfonated Divinylbiphenyl Copolymers**, *Carbon*, **46**(2), 310-319(2008).
- 2) Md. Rabiul Awual, Shinya Urata, Akinori Jyo, Masao Tamada, and Akio Katakai, **Arsenate Removal from Water by a Weak-base Anion Exchange Fibrous Adsorbent**, *Water Research*, **42**(3), 689-696(2008).

(2) 原著論文以外による発表

なし

(3) 口頭発表

- 1) Akinori Jyo, Yuko Hamabe, Yo Nawata, Kazunori Yamabe, and Manabu Sugimoto,
Metal Ion Selectivity of Bifunctional Cation Exchange Resins Containing Phosphonate and Sulfonate Derived from Crosslinked Chloromethylstyrene-styrene Copolymer Beads,
4th International Conference on Ion Exchange (Abstract book p 9), Chiba University, Oct.15-18, 2007.
- 2) Md. R. Awual, Shinya Urata, Akinori Jyo, Masao Tamada, and A. Katakai,
Zirconium(IV) Loaded Bifunctional Fiber Containing Both Phosphonate and Sulfonate as Arsenate Adsorbent,
4th International Conference on Ion Exchange (Abstract book p 30), Chiba University, Oct.15-18, 2007.
- 3) Hirotaka Matsuura, Yusuke Morioka, Akinori Jyo, Masao Tamada, and Akio Katakai.
Bifunctional Chelating Fiber Containing Iminodiacetate and Sulfonate Groups Derived from Polyolefin Co-grafted with Chloromethylstyrene and Styrene for Trace Metal Analysis,
International Symposium on Metallomics 2007 (Abstract Book p 108), Nagoya Congress Center, Nov. 28-Dec. 1, 2007.
- 4) 松浦博孝、秋野美穂、兵頭重美、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による三価金属イオンの吸脱着特性、日本分析化学会第56年会（講演要旨集 p 108）2007年9月19日～21日、徳島大学。
- 5) 城 昭典、松浦博隆、池上 文、玉田正男、片貝秋雄、
二段階グラフト重合法によるイミノ二酢酸とスルホン酸を有する二官能性キレート繊維、2007年日本化学会西日本大会（講演要旨集 p 150）2007年11月10日～11日、岡山大学。
- 6) 井上真一、松浦博隆、城 昭典、玉田正男、片貝秋雄、
クロロメチルスチレンをグラフトした繊維へのホスホン酸とスルホン酸の逐次導入法開発
2007年日本化学会西日本大会（講演要旨集 p 88）2007年11月10日～11日、岡山大学。
- 7) 小佐井秀行、富安 敬、城 昭典、高橋周一、長谷川 伸、前川康成、
ガンマー線を利用したホスホン酸型陽イオン交換膜合成における基体膜圧効果
2007年日本化学会西日本大会（講演要旨集 p 88）2007年11月10日～11日、岡山大学。
- 8) 郷 康弘、小佐井秀行、城 昭典、玉田正男、片貝秋雄、
高速に硝酸イオンを吸着する陰イオン交換繊維
2007年日本化学会西日本大会（講演要旨集 p 88）2007年11月10日～11日、岡山大学。
- 9) 永田和美、加藤翔太、井原敏博、城 昭典、
機能的ペプチド誘導体の合成を目的としたペンダント型固相担体の開発、
2007年日本化学会西日本大会（講演要旨集 p242）2007年11月10日～11日、岡山大学。
- 10) 城 昭典、高機能的イオン捕集剤の開発と応用に関する研究(九州分析化学会賞受賞講演)
2007年度日本分析化学会九州支部講演会、2007年11月17日、(財)物質評価研究機構久留米事業所。
- 11) 郷 康弘、松浦博隆、城 昭典、玉田正男、片貝秋雄、
放射線グラフト重合法で合成した陰イオン交換短繊維の高速通液条件下での硝酸イオン吸着挙動、第12回放射線プロセスシンポジウム（講演要旨集 p 120）2007年11月29～30日、日本科学未来館。
- 12) 城 昭典、キレート系陽イオン交換体の吸着速度の改善（依頼講演）、日本イオン交換学会2007年度常任幹事会（話題提供講演会）、2007年12月4日、東京工業大学百周年記念館。

(4) 特許状況

なし

平成19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。

H19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研究、ならびに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ってきた。本年度は、金属製錬や廃棄物処理によって発生するスラグからの重金属の溶出性、特にヒ素の溶出について検討を加えた。

2. 平成19年度の研究成果

① 試料

表1に、本研究に用いたスラグの組成を示す。
このスラグは、銅の自溶炉マット溶錬で発生したスラグであり、その外観を写真1に示す。

表1 スラグ試料の化学分析組成（重量%）

Cu	Total Fe	SiO ₂	Zn	As	Sb	CaO
0.74	40.7	37	1.6	0.1	0.02	1.7
MgO	Al ₂ O ₃	Fe ₃ O ₄	Pb	Cd	Bi	
1	4	9.7	0.2	<0.01	0	



写真1 試料の写真

②溶出試験

本研究における溶出試験は、環境庁告示第46号溶出試験によって行った。そのフローシートを図1に示す。

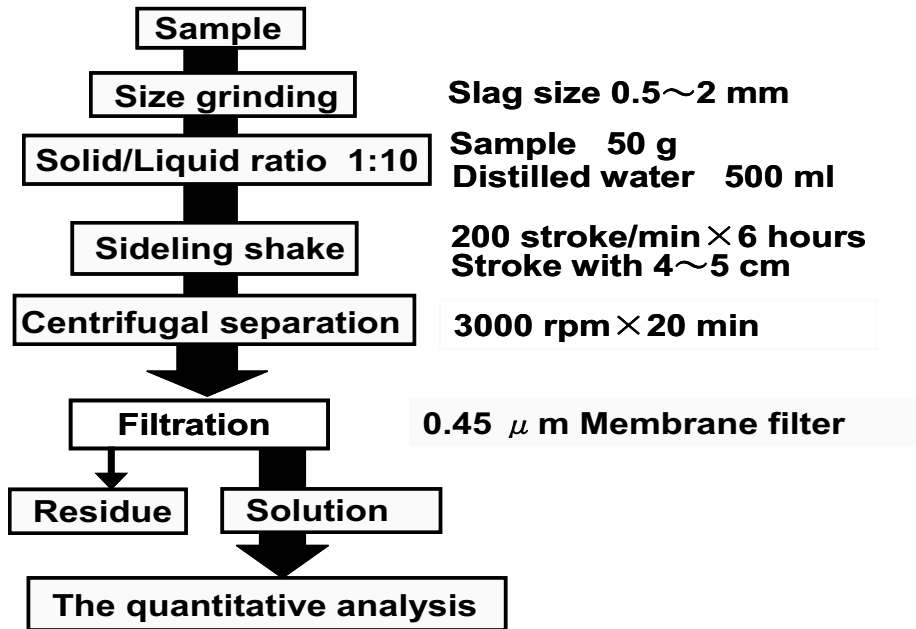


図1 環境庁告示第46号溶出試験のフローシート

③スラグからの重金属の溶出性

スラグからの重金属の溶出濃度は、一般にスラグを高温で熱処理して結晶化させると低くなる。これはスラグのガラス質が安定な結晶質に変化するためと考えられている。

図2に、銅の水砕スラグとこれを1000℃で熱処理して結晶化させたスラグからの鉛と鉄の溶出濃度の違いを示した。

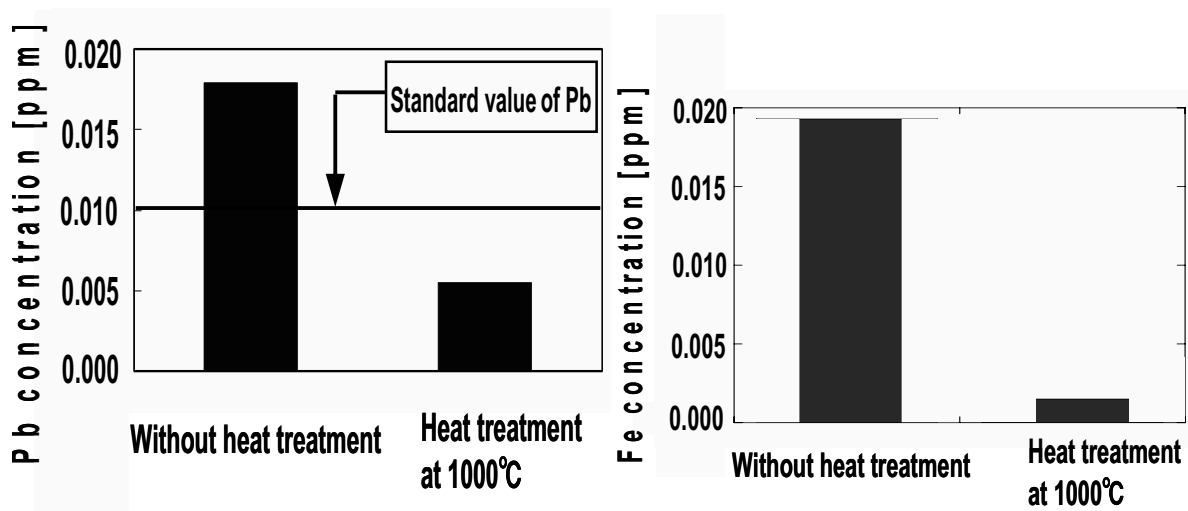


図2 水砕スラグとこれを1000℃で熱処理したスラグからの鉛（左）と鉄（右）の溶出濃度

銅スラグを熱処理して結晶化させると、鉛と鉄の溶出濃度は、それぞれ未処理のスラグからの溶出濃度の十分の一程度になり、結晶化により重金属の溶出が抑えられることが分かる。

図3には、銅スラグを各温度で熱処理したときの、スラグからのヒ素の溶出濃度の変化を示した。銅スラグからのヒ素の溶出濃度は、加熱温度 500°C程度までは熱処理により低下するものの、さらに高温で熱処理すると逆に増加し、特に 900°C以上の温度で熱処理すると、ヒ素の溶出濃度は著しく増加した。このように、スラグからのヒ素の溶出挙動は、鉛や鉄の溶出挙動とはまったく異なっており、これにはヒ素のレドックス変化が関係していると考えられる。そこで、スラグから溶出したヒ素の化学形態別分析を行った。

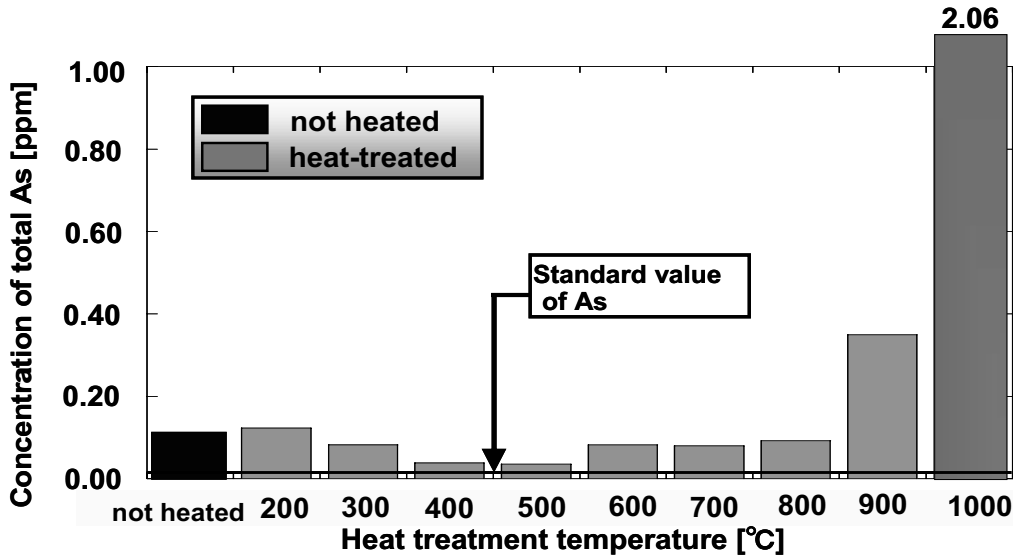


図3 銅スラグの熱処理温度とヒ素の溶出濃度の関係

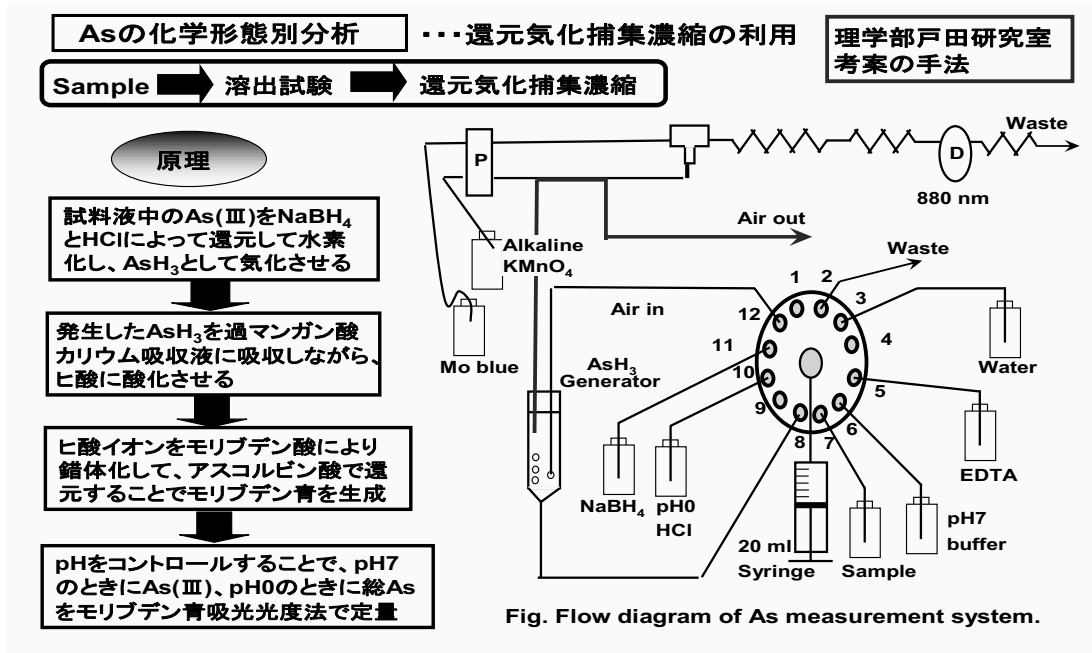


Fig. Flow diagram of As measurement system.

図4 ヒ素の化学形態別分析法

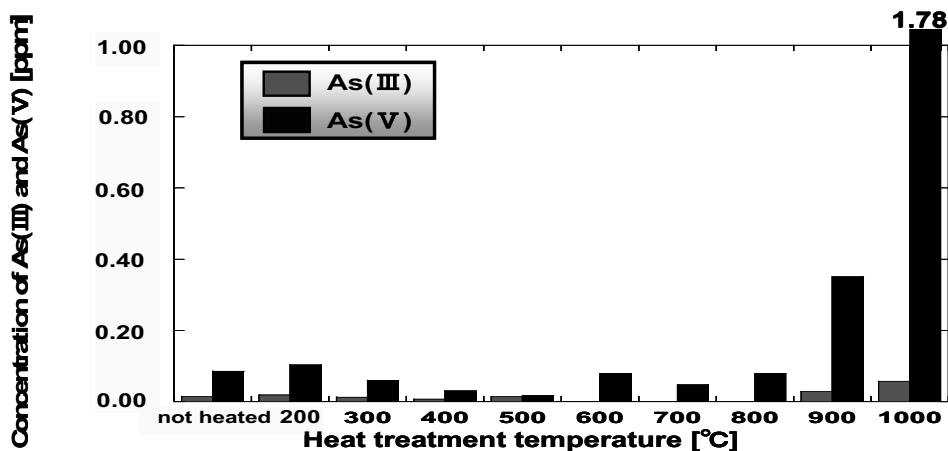


図5 銅スラグの熱処理温度と溶出したヒ素の化学形態別分析結果

④スラグから溶出したヒ素の化学形態別分析

図4に、水中のヒ素の化学形態別分析法を示す。3価のヒ素と5価のヒ素をpHによって分離し、トータルヒ素は、モリブデン酸青吸光光度法で定量した。

図5には、銅スラグの熱処理温度とスラグから溶出したヒ素の化学形態別分析結果を示した。図から明らかなように、スラグから溶出したヒ素のトータル濃度は、図3に示したものと大差ないことが分かる。また、スラグから溶出したヒ素は5価のものが圧倒的に多く、3価のものは少ないことが分かった。これは、溶出試験が大気中での6時間振とう試験であるため、水に溶出したヒ素が大気と平衡するためであると考えられる。また、ヒ素が溶出したこれらの水に塩酸を添加すると、塩酸の還元作用により、3価のヒ素が多くなることが分かった。そのため、スラグ中のヒ素の化学形態を知るには、固体のままでのXPS (ESCA) 分析などを行う必要があることが分かった。

3. 成果の達成度

今年度は、銅製錬で発生するスラグからの重金属の溶出性、特にヒ素の溶出についての知見を得ることができたため、目的は十分に達成されたものと考えられる。

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、合金スクラップからの希土類の回収について研究を行う予定である。

6. 平成19年度の研究費取得状況

1. 平成19年度科学研究費補助金（基盤研究（C））代表

「含希土マグネシウム合金スクラップからの希土類の回収」(3770 千円)

7. 平成19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)

1. 非鉄スラグの有効利用:河原正泰、資源と素材、第113巻、第12号、995-998頁(1997)
2. 亜硫酸ガスを用いたコバルトクラストのアンモニア浸出および溶媒抽出特性:井上 章、河原正泰、資源と素材、第114巻、第3号、195-199頁(1998)
3. 製鋼ダストの酸浸出とその速度:河原正泰、藤田勇一、資源処理技術、第49巻、第1号、9-15頁(2002)
4. 非鉄製錬におけるスラグとダストの最適処理に関する研究:河原正泰、日本鉱業振興会研究成果報告書、日本鉱業振興会、79-84頁(2002)
5. 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)
6. 湿式亜鉛製錬工程におけるシリカの基礎的挙動について:池信省爾、田原浩志、西山文浩、河原正泰、J of MMIJ、第124巻、第3号、印刷中(2008)

② 国際誌(欧文)

1. Masayasu KAWAHARA, The Extraction and Separation of Nickel, Cobalt and Copper using Solvent Impregnated Resin made from LIX 84-I and XAD-4:Masayasu KAWAHARA, Metallurgical Review of MMIJ, Vol.18, No. 1, pp.29-38 (2005)
2. 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)
3. 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(今年度)

なし

(3) 口頭発表(今年度)

1. 銅精錬スラグからのヒ素の溶出性調査:小森慎太郎、河原正泰、資源・素材学会九州支部平成19年度春季例会講演要旨集、pp.10-12(2007)
 2. $Mg_{95.8}Zn_2Y_2Zr_{0.2}$ 合金の真空蒸留残渣のリサイクルに関する研究:佐藤直人、河原正泰、井上誠、資源・素材学会九州支部平成19年度春季例会講演要旨集、pp.13-15(2007)
 3. 湿式亜鉛製錬におけるシリカの挙動に関する研究:西山文浩、田原浩志、河原正泰、池信省爾、資源・素材2007(名古屋)、p.8(2007)
 4. 酸化クロム含有耐火物のスラグ溶損機構:笠原啓由、砂山寛之、河原正泰、日本鉄鋼協会第154回秋季講演大会、PS-9(2007)
- 他8件

(4) 特許の取得

なし

平成 19 年度 拠点 B 国際シンポジウム

目的

イオン交換法は、超純水製造・イオンの分離と濃縮などで分析化学と密接に関連しているほか、重金属イオン・ヒ酸イオン・フッ化物イオンなどの有害成分を含む水の浄化を通して水環境保全にも大きな貢献をしている。また、**high throughput** な環境分析法とイオン交換法は近い将来起こると懸念されている地球規模での水不足を防止する技術を開発する上で極めて重要な役割を担っている。本年度は、イオン交換ならびに環境分析の分野で活躍中の著名な研究者 5 名を内外から招聘し、大気と水質汚染物質の **high throughput** 分析法開発、発展途上国における鉱山廃水浄化技術開発、海水淡水化における重要課題であるホウ素除去技術の開発、イオン交換体の応用上不可欠なイオン交換の選択性の熱力学的理論ならびに最新の計算機化学を駆使した新規イオン交換体の設計の 5 領域についての現状と将来を議論し、理解を深めることを目的とした。

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
『イオン交換に基づく水環境保全及び環境分析』

International Symposium on “Aquatic Conservation Based on Ion Exchange and Environmental Analysis”

2007 年 10 月 22 日 (月) (9:30 ~ 15:40)

熊本大学工学部百周年記念館 (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』、
熊本大学大学院自然科学研究科

後援：日本イオン交換学会、日本分析化学会九州支部、

熊本大学大学院『魅力ある大学院教育』イニシアティブ

参加費：無料

9:00 ~ 9:30 受付、参加登録

9:30 ~ 9:35 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)

9:35 ~ 9:40 歓迎の言葉 菅原勝彦 (Vice President, Trustee K. Sugawara, 熊本大学理事・副学長)

《セッション 1》

9:40 ~ 10:30 司会：森村 茂、Associate Prof. S. Morimura

Gas Analysis Devices and Their Applications to Atmospheric and Water Analyses

(ガス分析デバイスの開発とその大気・水環境分析への応用)

熊本大学教授 戸田 敬

10:30 ~ 11:20 司会：河原正泰、Prof. M. Kawahara

The Potency of Mg/Al Layered Double Hydroxide Anionic Clay for the Remediation of Acid Mine Leachate

(鉱山酸浸出廃液の浄化における Mg/Al 層状複水酸化物系陰イオン性粘土の

実効性)
Gadjah Mada University Prof. Sri Jauri Santosa

昼食 (11:20 ~ 12:50)

《セッション2》

12:50 ~ 13:40 司会：城 昭典、Prof. A. Jyo

Innovative Integrated Process for Boron Removal from Seawater
- Adsorption Membrane Filtration (AMF) Hybrid Method
(海水からのホウ素除去を目的とした革新的統合プロセス
- 吸着と膜濾過を組合わせた方法)

Ege University Prof. Nalan Kabay

13:40 ~ 14:30

Selectivity and Thermodynamics of Ion Exchange
(イオン交換の選択性と熱力学)

University of Pannonia Prof. Aurel Marton

Coffee break 14:30 ~ 14:45

14:45 ~ 15:35 司会：井原敏博、Associate Prof. T. Ihara

Structural Analysis of Metal Complex by Computational Chemistry
(計算機化学を用いた金属錯体の構造解析)
北九州市立大学教授 上江州一也

15:35 ~ 15:40 閉会の辞 嶋田 純 (Prof. J. Shimada)

参加者状況

学外参加者：10名 (名古屋大1、北九州大2、企業4、外国人3名)

学内参加者：91名

合計：101名

決算

入金

自然科学研究科長裁量経費 500,000

平成19年度拠点(B)予算より 153,850

合計 653,850

支出 (自然科学研究科長裁量経費より)

Proceedings 印刷 149,100

プリンター用インク等 10,200

旅費(Prof. Marton) 71,140

(Prof. Santosa) 87,340

(Prof. Kabay) 87,340

(上江洲教授) 24,880

外国人講演謝金(20,000x3人)	60,000
日本人講演謝金(10,000x1人)	10,000
小計	500,000

支出（平成19年度拠点(B)予算より）

立て看板、横断幕	77,700
ポスター（200枚）	66,150
文房具	10,000
小計	153,850
合計	653,850

成果

本シンポジウムにより、拠点B『水環境汚染物質の動態評価研究』で行われている研究・教育における活発な活動を、学内、内外の大学、企業に紹介・発信することができた。招聘研究者の講演内容に関する参加者と講演者の議論を通して、環境汚染物質の **high throughput** 分析法開発、開発途上国における鉱山廃水浄化技術開発、海水からの逆浸透法による飲料水製造において重要なホウ素除去技術開発、さらには新規イオン交換体の設計に関する基礎研究などの世界の現状について、参加者相互間の理解を深めることができた。また、この種のシンポジウムを開催することにより、関連研究室はもとより理学部・工学部・自然科学研究科の学生・院生・教職員の教育・研究のレベルアップにも資するところ大であった。（城 昭典）

シンポジウムの記録（撮影 河原教授）



