

## 水環境汚染物質の動態評価研究拠点の構築[平成16年度報告書]

著者	安部, 眞一, 滝尾, 進, 逸見, 泰久, 内野, 明德, 古川, 憲治, 木田, 建次, 森村, 茂, 重松, 亨, 川越, 保徳, 嶋田, 純, 滝川, 清, 城, 昭典, 河原, 正泰, 小池, 克明
発行年	2005-04
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2298/7881">http://hdl.handle.net/2298/7881</a>

熊本大学平成 16 年度発足「拠点形成研究 B」

平成 16 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 17 年 4 月

拠点リーダー  
自然科学研究科・教授  
安部眞一

拠点サブリーダー  
工学部・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。特に、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・理学部・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  
内野明德・理学部・教授・沿岸域センター所長

### (B) 環境汚染物質のバイオ・レミディエーション

古川憲治・工学部・教授  
木田健次・工学部・教授  
川越保徳・工学部・助教授

### (C) 沿岸域水循環の評価

嶋田純・理学部・教授  
滝川清・沿岸域センター・教授  
小池克明・工学部・助教授

### (D) 微量環境汚染物質の定量

城昭典・工学部・教授  
河原正泰・工学部・教授

## 目的に対する進捗状況

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

### (A) 環境汚染物質の生物モニタリング

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

### (B) 環境汚染物質のバイオ・レメディエーション

- ・集積に成功した嫌気性アンモニア酸化(Anammox)汚泥を活用して、これまでに全く報告されていない新規な窒素自法を開発することを目的として研究を実施している。現在、50l の容量の Anammox カラム・リアクタまでスケールアップに成功している。PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床でも、カラム・リアクタと同程度の処理能力のあることを確認しており、今後高い濃度の窒素排水処理への適用が期待されている。Anammox に先立つ部分亜硝酸化に関しては、汚泥付着能力に優れた網目状のアクリル製繊維担体を充填したリアクタを構築し、部分亜硝酸化処理条件を実験的に決定した。その長期安定性を検討する中で、一槽でアンモニアを除去できる SNAP 法を開発することができ、大きな成果に結びついている。
- ・生分解性プラスチックである PHB を活用する硝酸性窒素に汚染された地下水の浄化を目的に研究を行っている。PHB を充填した土壌カラム・リアクタによる硝酸性窒素除去の連続処理試験を行い、リアクタ内の窒素の挙動と関与細菌に関する基礎的知見を得ることができ、今後の進展が期待されている。
- ・有機物濃度の高い廃水・廃棄物をメタン発酵によるサーマルリサイクルやバイオテクノロジー

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

### (C) 沿岸域の水環境の評価

- ・九州地域の水循環プロセスに関して、環境同位体手法と物理的な観測およびシミュレーション等を適宜併用することにより、降水・蒸発散・土壌浸透・地下水流動・海底地下水湧出等のプロセスの実態把握とその要因の解明、及びそれらに基づく地域の水循環・水賦存特性の評価を行うことを目標に研究を進めている。これまで一つの降雨イベントに関しては、森林植生域では樹幹流の影響により、降水中の安定同位体比が他の土地利用地域と異なる可能性を明らかにしている。この結果は、これまでその存在が軽視されてきた樹幹流の定量評価研究として十分な価値が認められている。
- ・環境悪化の原因とメカニズムが不明のまま疲弊状態にある有明・八代海をモデルとし、海域環境の複雑なメカニズムを物理的、化学的、生物的に多側面から研究し、環境変化の評価・予測システムの構築を行うこと、海域環境保全と維持方策についての現地実証実験・開発研究とともに、海象災害の評価・予測システムの構築を行い、環境と防災とが調和した環境保全の理想像を創出することを目的として研究を進めている。有明・八代海の環境と防災にかかわる総合研究を推進するに当たって、過去のデータの収集と分析、現地での観測調査によるデータ収集、数値シミュレーション手法の開発と適用、干潟環境回復のための現地実証実験、および海域環境の回復・維持方策についての行政への提言等、積極的に推進・展開をおこなった。
- ・水源から有明海までの流域圏における水理構造の全体像を解明するとともに、水域環境を広域的にモニタリングし、データの数理解析によって環境の時間的・空間的变化を詳細に明らかにすることで、水域環境に影響を及ぼす要因を特定することを目標に研究を実施している。この目標達成のために、次の3つのサブテーマを設定している。①リモートセンシングによる広域水域環境の定量化法の確立、②水域環境データの時空間分布のモデリング法の確立、③地磁気―地電流法による浅部から深部に至る水理構造の解析法の確立。3つのサブテーマともに平成15年度の問題点に対処し、新たな手法を提案するとともに、妥当な解析結果や測定データを増やすことができた。高層気温・湿度を考慮した放射熱伝達理論から、海面温度推定に関する考察も深められた。これらの観点からは、前述の平成16年度の目的・目標に関してほぼ達成できたと考えている。

#### (D) 微量環境汚染物質の定量

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

#### 平成 16 年度博士後期課程学生数

	進学生	留学生	社会人	H17 入学者数
安部眞一	2	3	4	2
瀧尾進	0	2	2	0
逸見泰久	1	0	0	2
内野明德	0	0	3	0
古川憲治	1	5	2	1
木田建次	1	4	4	1
川越保徳	0	0	0	0
嶋田純	1	0	0	1
滝川清	0	0	0	0
小池克明	2	3	1	1
城昭典	0	0	2	2
河原正泰	0	1	1	0
計	8	18	19	10

平成16年度の研究経費使用実績報告について

研究経費内訳	金額 (円)	使用内訳
設備備品費	266,457	水質分析装置一式
	700,000	Anammox リアクター一式
人件費	0	
事業推進費	207,320	学内シンポへの先端研究者の招聘費 (2人) (講演謝金を含む)
	203,000	学内シンポ要旨集, ポスター印刷費 (各300部)
	100,000	H16年度報告書印刷費 (200部)
	374,000	衛星データ購入費
旅費	124,520	調査交通費
謝金	250,000	実験補助 (大学院生の国際学会参加旅費, 5名)
	360,000	実験補助 (私費留学生補助金, 1名)
その他	414,703	分析用消耗品費
合計	3,000,000 (円)	

使用結果に関する報告	<p>【情報発信】「水環境汚染物質の動態評価研究」に関するシンポジウムを平成16年11月22日（月）13:00~17:00に大教センターC-301教室において本拠点グループ主催で開催した。今回は「内分泌かく乱物質」を主たるテーマとし、この分野の国際的権威である京都大学・松井三郎教授と自然科学研究機構・井口泰泉教授による特別講演と本拠点グループ3名による一般公演が行われた。関連研究機関や一般市民を対象にポスター（資料添付）を300部配布し、新聞紙上にも案内を掲載した結果、当日は200名の参加者があり、活発な議論が交わされた。講演要旨集（300部、資料添付）は当日参加者や学内関連部署に配付した。講演会後に招待演者と研究メンバー全員により情報交換を行なった。招待演者から、水環境動態評価に関する本研究グループの取組みは国内でも例がなく、今後の推進を期待するとの評価をいただき、研究推進にむけ貴重な情報を得ることができた。</p>
	<p>【研究推進】本拠点グループでは環境汚染物質の定量および生物モニタリング、バイオ・レミディエーション、沿岸域水循環の評価のサブグループによりなるが、H16年度は各グループ間の有機的連携にむけ要求度の高いテーマに研究推進経費を充てた。沿岸域水環境評価グループでは衛星データ（374千円）と複数の観測データを用いて高精度の有明海の海面温度推定法を開発した。バイオ・レミディエーショングループでは、大容量リアクター（700千円）により大量のAnammox汚泥の入手が可能になり、Anammoxによる窒素除去技術の研究をこれまで以上に推進することができた。汚染物質定量グループでは、水質分析機器を補充し（266千円）、汚染物質の超高速かつ高選択的に吸着可能な分離機能繊維の開発に成功した。</p>
	<p>【学生支援】大学院生の研究活性化の一環として国際学会発表における旅費の一部（一件につき50千円、計10件）を謝金より援助した。また、私費留学生（国際大学院コース）は経済的に困窮しており、自然科学研究科からの補助だけでは不十分と考え、ひとりあたり月30千円、年間360千円を謝金より援助することとなった。本年度は該当学生1名に充てた。</p>



## この拠点研究に関連した外部資金の獲得状況

(科学研究費補助金、他省庁・研究助成法人・民間企業からの研究費等)

### 安部眞一

- ・ 科研費 基盤研究(B)、2002-2005年、300万円(平成16年度分)  
「精原細胞の減数分裂開始機構」

### 滝尾 進

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

### 逸見泰久

- ・ 日本自然保護協会2003年度プロ・ナトゥーラ・ファンド研究助成。(分担). 1,000千円

### 木田建次

- (1) 受託研究(日揮(株)), 2004年, 2550万円, バイオマスエネルギー高効率転換技術: 高温耐性、耐酸性および耐塩性を有する凝集性酵母の育種及び高効率発酵プロセスの開発/蒸留廃液処理プロセスの確立
- (2) 受託研究(ヤンマー(株)), 2004年, 465万円, バイオマスエネルギー高効率転換技術: ABE発酵後のメタン発酵の最適化研究
- (3) 受託研究(地球環境産業技術研究機構), 2004年, 525万円, 蛋白系バイオマス資源の高効率液化および有機酸生成技術の開発
- (4) 受託研究((株)りゅうせき), 2004年, 1260万円, 沖縄産糖蜜の高度利用等に関する研究
- (5) 受託研究(九州沖縄農業研究センター), 2004年, 900万円, 林産残さ、食品残さ等未利用バイオマスの循環・利用システムの開発
- (6) 受託研究(九州沖縄農業研究センター), 2004年, 300万円, 南九州畑作地域におけるゼロエミッション型カスケード利用システムの開発
- (7) 受託研究((財)くまもとテクノ産業財団), 2004年, 150万円, 家畜排せつ物および生ゴミのメタン発酵による利活用
- (8) 受託研究((財)畜産環境整備機構), 2004年, 100万円, 家畜糞尿搾汁液を主体とする九器物の高速度・硫化水素低減・安定化メタン発酵技術の開発
- (9) 科研費(重松亨), 2004年, 240万円, メタン発酵槽内の微生物共生系における細胞間電子伝達系の解明
- (10) 科研費(滝川清), 2004年, 120万円, 有明海干潟環境の回復・維持方策に関する研究(干潟底泥の微生物叢解析に基づく干潟機能改善)
- (11) 共同研究(瑞鷹(株)), 2004年, 540万円, ゼロエミッション焼酎・健康酢製造技術の実証と事業化
- (12) 共同研究(霧島酒造(株)), 2004年, 690万円, 焼酎粕からの機能性飲料・食品の開発
- (13) 共同研究((株)バイファ), 2004年, 215万円, 酵母廃液処理方法の検討
- (14) 共同研究((財)北九州産業学術推進機構), 2004年, 122万円, 窒素含有有機性廃棄物処理技術の開発
- (15) 日本酒造組合中央会, 2004年, 250万円, 米焼酎粕および米焼酎粕から製造した醸造酢の機

- 能性／調査研究 2004年, 50万円, 主要国における蒸留酒の製法・品質、酒類制度の調査
- (16) 都市エリア産学官連携促進事業, 2004年, 238万円, バイオマスの効率処理技術の確立
  - (17) 奨学寄付金 ((株) エスエルシー), 2004年, 150万円
  - (18) 奨学寄付金 (ヤマキ (株)), 2004年, 50万円
  - (18) 奨学寄附金 (特定非営利活動法人みらい有明・不知火), 2004年, 232万円, 平成16年度熊本港干潟底質環境調査(微生物分析業務)
  - (19) 奨学寄付金 (三菱重工), 2004年, 50万円
  - (20) 大木町 (NEDOバイオマス等未活用エネルギー実証試験事業・同事業調査), 2004年, 250万円

古川憲治

① 科研費

・基盤研究 (B) (1)代表: 部分亜硝酸化と Anammox の組み合わせによる新規窒素除去プロセスの開発、平成 15 年度 510 万円、平成 16 年～18 年

② 財団等

・住友財団: 210 万円、代表、嫌気性アンモニア酸化 (Anammox) の迅速立ち上げ法の確立に関する研究、平成 15 年～16 年

③ 奨学寄附金

・アサヒビール株式会社、100 万円

・株式会社 クラレ、100 万円

川越保徳

・財団法人 前田記念工学振興財団, 2004 年, 100 万円, 水草バイオマスからの水素発酵と関与微生物群解析に関する研究

嶋田 純

① 科研費

・基盤(A) (1) (代表) 平成14-17年度、46100千円 (16年度、680万円)

山体基盤岩地下水流動の実態解明とその水資源的評価.

・基盤 (B) (2) (分担) 平成 16-18 年度 20000 千円 廃棄物処分に関わる安全性検討のための沿岸地圏域地下水流動システムの探査技術開発.

② その他

・都城市受託研究費 2004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 2004年度共同研究、分担 500千円、

『都市の地下環境に残る人間活動の影響』

・原子力環境整備促進・資金管理センター 地層処分重要基礎技術研究調査

2004-2006年度 15000千円 『堆積岩地域における塩淡境界に関する 研究』 徳永朋祥(代表)・嶋田 純(分担)

・資源・素材学会、深部地質環境調査解析技術体系化委員会 受託研究

『地下水の地球化学的調査に関する研究』、分担 2879千円

・委任経理金 3件 (1550千円)

小池 克明

- ・ 寄附金：民間企業より計 2,200 千円
- ・ 共同研究費：国立極地研・京都大学防災研，計 250 千円

#### 滝川清

##### ① 科研費

- ・ 基盤研究 (A) (2) 一般 (代表) 平成 14～17 年度 40,800 (千円).  
「有明海干潟環境の回復・維持方策に関する研究」
- ・ 基盤研究 (B) (1) 一般 (分担) 平成 16 年度 700 (千円).  
「津波・高潮・洪水氾濫の複合ハザードマップ」
- ・ 文部科学省地域貢献推進特別事業 (熊本大学・熊本県・市町村・NPO みらい有明・不知火).  
(代表). 「環・阿蘇/有明・八代海の環境保全・修復とブルー・グリーンツーリズム活性化のためのネットワーク構築」(16 年度 9,160 千円).

##### ② 奨学寄付金 平成 16 年度 8 件 11,597,200 円

(内訳)

- 1) 1,000(千円) 株式会社テトラ「植栽による干潟環境回復策の検討」
- 2) 1,000(千円) 株式会社ニュージェック  
「干潟の生態系モデルの開発とその現地適用性に関する研究」
- 3) 1,000(千円) 有限会社日本水産土木コンサルタンツ  
「有明海東部沿岸におけるシルテーション特性に関する基礎調査」
- 4) 950(千円) 特定非営利活動法人みらい有明・不知火  
「玉名横島海岸保全事業」
- 5) 917.2(千円) 特定非営利活動法人みらい有明・不知火  
「熊本港干潟底質環境調査」
- 6) 840(千円) 特定非営利活動法人みらい有明・不知火  
「有明海底質環境調査」
- 7) 1,000(千円) (株)同仁化学研究所
- 8) 4,800(千円) 特定非営利活動法人みらい有明・不知火

#### 城昭典

- ・ 西田鉄鋼研究基金助成，2003-2004年，120万円，超高速でリン酸ならびにヒ酸イオンを選択的に吸着する新規陰イオン交換繊維の開発と応用
- ・ 民間との共同研究 (三井金属鉱業株式会社)、2004-2005 年、200 万円、フッ化物イオンに高選択性の吸着剤開発

#### 河原正泰

科学研究費補助金 (基盤研究 (C) (2) ) 代表

「酸浸出-沈殿分離法による溶融飛灰からの有価金属の回収」(2600 千円)

#### 平成 17 年度の研究計画概要について

##### (A) 環境汚染物質の生物モニタリンググループ

- ・ 内分泌攪乱物質の中で、アンドロゲン様及び抗アンドロゲン様物質 (DDE など) がヒラメ (海水

魚)またはメダカ(淡水魚)の性分化へ及ぼす影響を解析し、これまでに開発した高感度なエストロゲン、アンドロゲン応答レポーターアッセイを用いて、これらの物質の*in vitro*での作用メカニズムを解明する。

- 各種の生息環境(水質や底質, 餌量など)を測定し, 生活史・生息状況と環境変動(環境悪化)との関係を明らかにすることで, 優占種や特産種の生活史・生息状況と環境との関連を明確にし, 有明海・八代海の生態系の解明に努める。また, 塩性湿地や干潟の再生, 干潟や浅海域の覆砂・耕耘・浚渫などの工学的手法と, それをモニタリングする理学的手法を組み合わせることで, 沿岸域の環境悪化を改善する手法について研究する。
- スサビノリの鉄欠乏による赤色化現象にYcf18遺伝子が関与しているのかを明らかにするために, 1) 各種金属欠乏におけるYcf18遺伝子の発現の応答が鉄欠乏に特異的であるかどうかの検証, 2) 各種培養条件の葉状体より葉緑体を単離して Ycf18タンパクの局在部位の決定, 3) Ycf18の機能解析のために, 単細胞紅藻の葉緑体形質転換法を参考にしてYcf18欠損変異体の作出の試み, を行う。
- 「海産被子植物アマモ集団の遺伝的変異と繁殖様式」の研究を分子生物学的な手法を使って詳細に進めるとともに, 「菊池川における外来種ブラジルチドメグサの遺伝的変異と繁殖様式」の研究を実施する。

#### (B) 環境汚染物質のバイオ・レメディエーショングループ

- 嫌気性アンモニア酸化 (Anammox) 反応の実用化をにらんで, 1) 大型 Anammox リアクタを使った短期間で高い窒素除去速度の達成, 2) PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床の処理能力の把握, 3) Anammox と部分亜硝酸化を組み合わせた一槽型の SNAP 法の実排水への適用の可能性, を検討する。
- 生分解性プラスチック PHB を充填した土壌カラムから分離された PHB 資化性脱窒細菌について, 生物学的な基礎研究を進めるとともに, 同細菌を活用し, PHB を炭素源および電子供与体として用いる高速で低コストの硝酸性窒素除去技術の構築に関する研究を推進する。
- メタン発酵した嫌気性処理液の利活用や環境ホルモンの問題に関して検討する。また, 環境負荷の軽減と地球温暖化防止につなげるため, 食品や醸造工程から排出される廃棄物系バイオマスから機能性食品を製造し, その生理活性や作用機構を明確にする。さらに, 干潟におけるイオウサイクルを明らかにし, 微生物生態系と底生・水生生物の生態系の相互作用を検討する。

#### (C) 沿岸域の水環境の評価グループ

- 湿潤温帯域にある九州地域のような森林植生域では樹幹流の影響により, 降水中の安定同位体比が他の土地利用地域と異なる可能性がある。樹幹流の発生は, 降雨の形態と樹種によって大きく異なるので, 色々なタイプの降雨形態時の樹幹流について, 流出に対する寄与率をここで提案された方法で検証することにより, 源流域における樹幹流の涵養効果の定量化を図る。
- 有明・八代海において, 1) 海域における物理環境・生態環境のデータ解析に基づき, 環境変動の要因分析を行うことで, 環境再生と持続性に関する要因を抽出する。2) 浮泥の浮遊・沈

降特性を実験的に調べるとともに、数値解析のための浮泥流動モデルを開発するとともに、有明・八代海域に最も適した生態系モデルの構築を図る。3) 貧酸素域等での水質環境と物理環境特性を明らかにするとともに、窒素、リンの収支の検討をする。また、生物叢解析に基づく分子生物学的手法を用いて、干潟底泥サンプル中の細菌および古細菌の群集解析などを行い、底泥中の微生物叢と底泥質をデータベース化する。特に生態系に悪影響を及ぼすと考えられる硫酸塩還元細菌については、干潟の質と微生物叢および代謝機能を比較することで、微生物と干潟の質の因果関係を明らかにする。

- ・ リモートセンシングに関して以下の研究を実施する。1) 衛星リモートセンシング：海面温度以外に海水や河川水の混濁度、植物プランクトン量という代表的な環境因子に注目し、その時空間分布をLANDSAT画像やTerra/ASTER画像における複数のバンドデータの多変量解析によって抽出できる手法を考案する。複数の箇所から干潟堆積物をサンプリングし、分光反射率と粒径分布の測定を継続する。これによって分光反射率から粒径分布を推定するのに有効な手法を考案する。2) 数理モデル：水温や栄養塩濃度に塩分濃度などの他の水質環境データも加えて解析を進める。時空間データの実験セミバリオグラムからセミバリオグラムモデルを作成するための手法について検討を加える。成分間の相関性を考慮した多変量時空間地球統計学を定式化し、データへの適用によって有効性を検証する。3) 地磁気-地電流計測：AMTとMT法によるこれまでの測定データを詳細に解析することで、涵養域から流出域までの地下水系の全体像を明らかにする。これに海底電気探査を組み合わせ、有明海底に湧水する地下水の経路も比抵抗分布から推定する。

#### (D) 微量環境汚染物質の定量

- ・ 純有機系イオン交換体の弱塩基性陰イオン交換繊維（城が開発）は、リン酸ならびにヒ酸の吸着において塩化物イオン、硫酸イオンの妨害の少なさという特性を有し、吸着速度も従来の粒状樹脂より格段に迅速で、吸着操作に要する時間を従来の樹脂充填カラムの1/100まで短縮できる。自然界で、リンはリン酸塩として存在する 경우가多いが、ヒ酸はヒ酸塩と亜ヒ酸塩の二つの形態で存在する。平成17年度は亜ヒ酸の吸着挙動について検討する。また、繊維の表面のみに2-3mmのイオン交換相を有するイオン交換繊維を開発し、さらなる吸着速度の向上を図る。
- ・ 現在その処理が問題となっている焼却飛灰ならびに溶融飛灰を酸浸出して無害化し、同時に金属元素を回収する第1段階としての浸出処理した溶液中に含まれる各種金属元素の分離・回収に関する研究を行う。また、浸出残渣の処理方法を検討し、一般廃棄物の焼却飛灰および溶融飛灰の無害化と有効利用技術を確立する。

## 平成16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：理学部理学科・安部眞一（北野健）

### 1. 研究目的・目標

#### H15年度～21年度における目的・目標

河川や海に存在する環境汚染物質の中で、特に内分泌系に影響を与える化学物質のことを内分泌攪乱物質と呼ぶ。この内分泌攪乱物質が及ぼす生物への作用機構については未だに明らかにされていないため、有効なモニタリングシステムの開発には至っていないのが現状である。そこで本研究では、内分泌攪乱物質が及ぼす生物への影響メカニズムを明らかにすると同時に、河川や海に存在する内分泌攪乱物質を総合的に評価できる生物モニタリングシステムの開発をめざす。まず、内分泌攪乱物質、特に女性ホルモン(エストロゲン)、男性ホルモン(アンドロゲン)様物質が及ぼす生物への影響を調べ、作用機構を明らかにする。次に、環境水にどのような作用を持つ内分泌攪乱物質が多く含まれているかを調べるための高感度な生物モニタリングシステムの開発をめざす。

#### H16年度の目的・目標

本年度は、アンドロゲン様及び抗アンドロゲン様物質が及ぼす生物への影響を解明するための第一段階として、アンドロゲン及び抗アンドロゲン剤は生物へどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的に研究を行った。我々は、環境要因に対して感受性の高い海産魚であるヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) において、エストロゲン及びエストロゲン様物質が及ぼす性分化への影響をすでに解明していることから、このヒラメを用いてアンドロゲン及び抗アンドロゲン剤の影響及び作用機構を調べた。さらに、アンドロゲン様物質を評価するためのアンドロゲン応答レポーターアッセイ系の構築を試み、新しい *in vitro* モニタリングシステムの開発をめざした。

### 2. 平成16年度の研究成果

#### ① 魚類の性決定・性分化機構

我々は、XX/XY 型の性決定遺伝子型を持つヒラメにおいて、雌への性分化に伴い発現量が上昇する因子としてアロマターゼ(P450arom)を同定しているが、雄への性分化に伴って発現量が上昇する因子の同定には至っていない。そこで、哺乳類、鳥類、爬虫類において雄への性分化時期に高発現を示すミューラー管抑制物質(MIS)に注目し、このヒラメホモログを単離すると同時に、水温制御により分化誘導した雌雄の生殖腺での発現パターンを調べた。その結果、ヒラメ精巣 cDNA ライブラリーから 1982bp のヒラメ MIS cDNA の単離に成功した。次に、RT-PCR 及び *in situ* hybridization 法を用いて性分化時期における発現解析を行った結果、MIS mRNA の発現量はヒラ

メの性的未分化時期(日齢50日)においてすでに性差が認められ、雄の生殖腺では高く、雌の生殖腺で低かった(図1)。また、性分化時期における MIS mRNA の発現は、雌の生殖腺では検出されず、雄の生殖腺の支持細胞でのみ観察された。これらのことから、性分化時期での MIS mRNA の発現パターンは、哺乳類、鳥類、爬虫類だけでなく、ミューラー管を持たない硬骨魚類においても保存されている可能性が考えられた。今後、MIS mRNA の発現パターンが内分泌攪乱物質によってどのように変化するか調べる予定である。

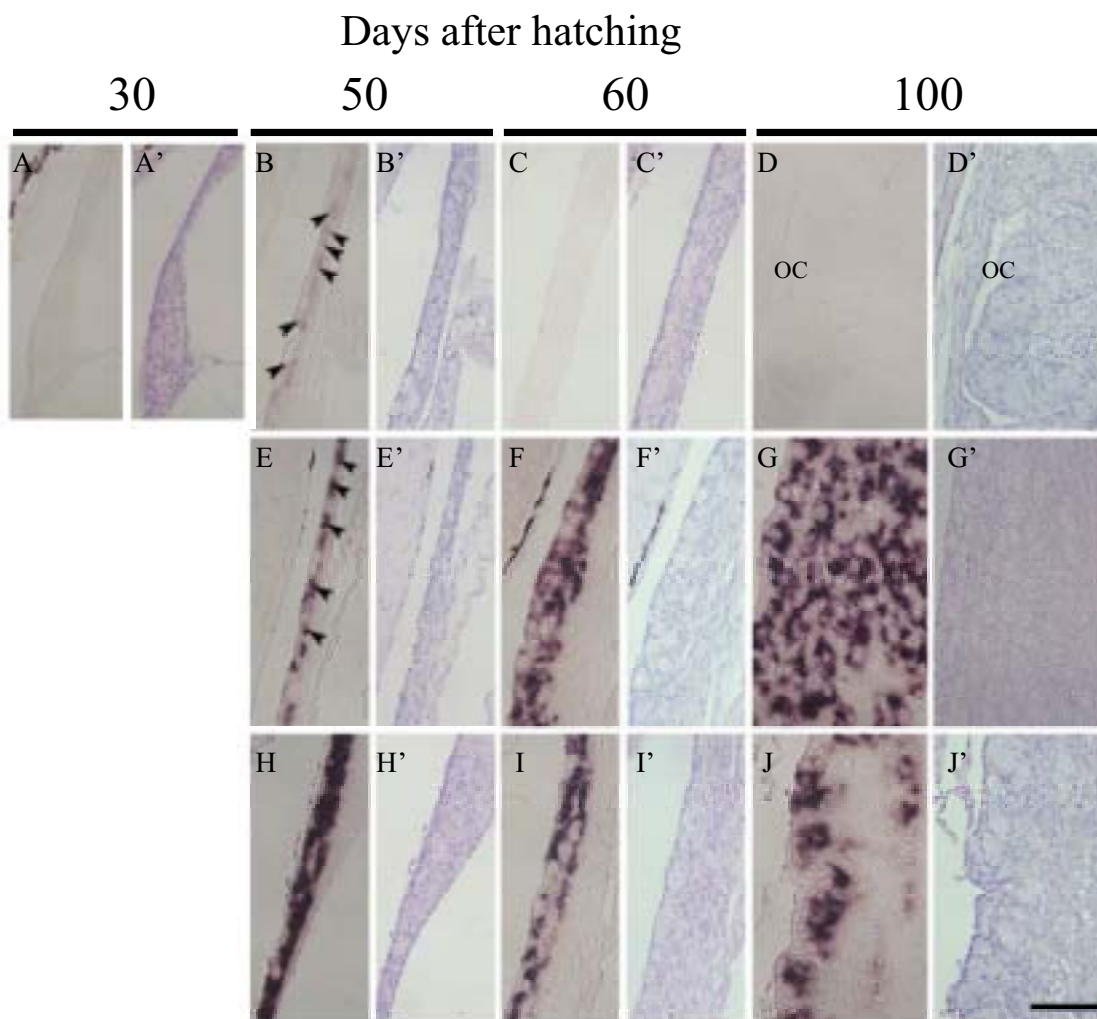


図.1 *In situ* hybridization によるヒラメ生殖腺での MIS mRNA の発現解析

A~J は *in situ* hybridization、A'~J' は HE 染色の生殖腺組織像を示した。A 及び A' は、それぞれ試験開始前の *in situ* hybridization 像と HE 染色像である。上段(B~D, B'~D')は対照雌(18°C飼育)、中段(E~G, E'~G')は高水温処理雄(27°C飼育)、下段(H~J, H'~J')は 11-KT 処理雄である。OC は卵巢腔(ovarian cavity)、Bar は 50µm を示す。

② ヒラメ性分化におけるアンドロゲンの作用機構

アンドロゲンは、魚類における雄への性転換誘導物質として以前から知られているが、未だに作用機構は明らかになっていない。そこで我々は、アンドロゲン処理または高水温処理により雄へと分化誘導したヒラメ遺伝的雌(XX)を用いて、その作用機構を分子生物学的に解析した。方法は、日齢 38-100 日間、XX ヒラメに 11-ケトテストステロン(11-KT; 1mg/g 餌) 処理または高水温(27 度) 飼育により雄へと分化誘導した個体を用いて、ステロイドホルモン産生酵素(P450<sub>scc</sub>, P450<sub>c17</sub>, P450<sub>11b</sub>, P450<sub>arom</sub>)、転写因子(SF-1, LRH-1) 及び MIS mRNA の発現パターンを RT-PCR 及び *in situ* hybridization 法により調べた。その結果、高水温処理個体の生殖腺では、処理期間中、P450<sub>arom</sub> 以外のステロイドホルモン産生酵素、SF-1, LRH-1 及び MIS mRNA は発現していたが、11-KT 投与個体では、11-KT 投与期間中、SF-1, LRH-1 及び MIS mRNA は発現していたものの、調べたすべてのステロイドホルモン産生酵素 mRNA の発現が抑制されていた(図 2)。これらのことから、11-KT は、P450<sub>arom</sub> を含むステロイド産生酵素 mRNA の発現を抑制し、その結果としてエストロゲン量を減少させることにより雄へと性転換させるのではないかと考えられた。

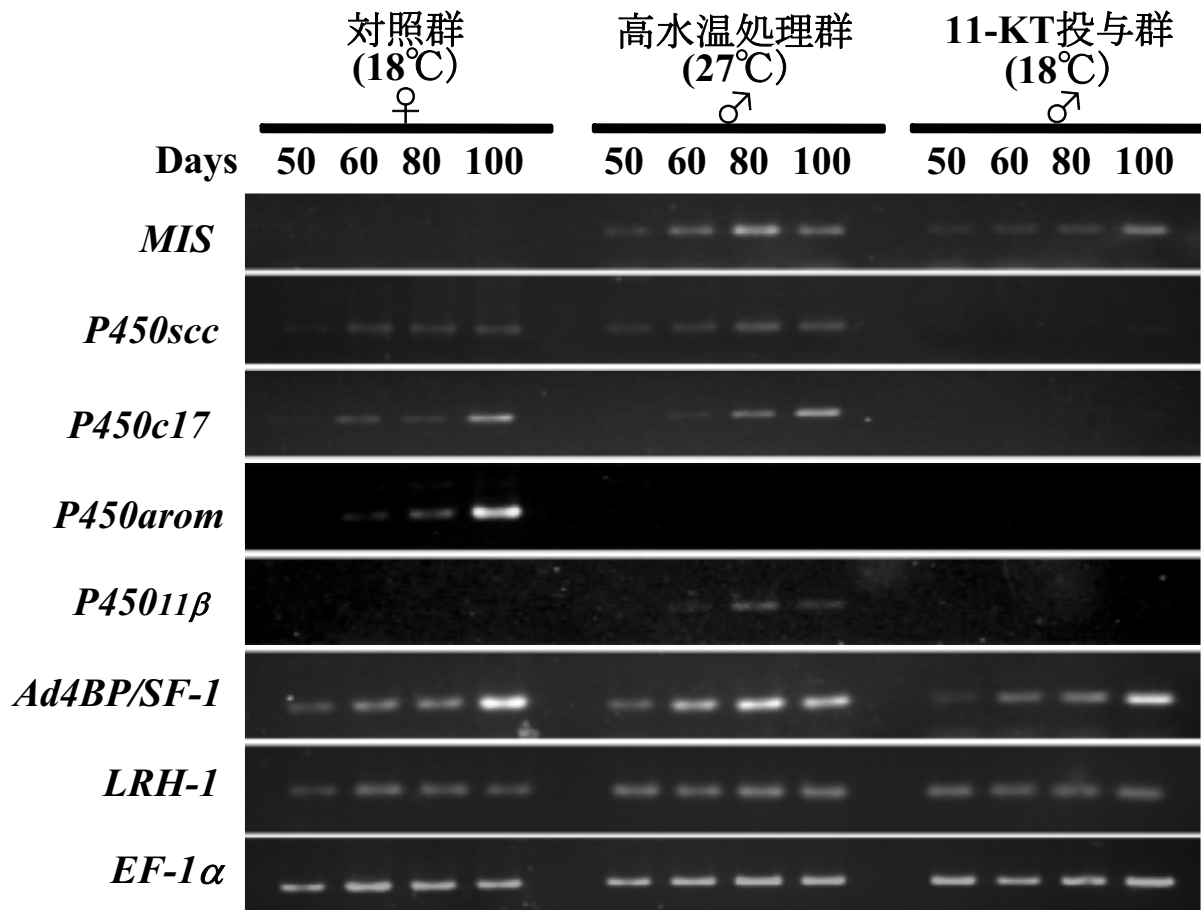


図 2 RT-PCR によるヒラメ生殖腺での性分化関連遺伝子の発現解析

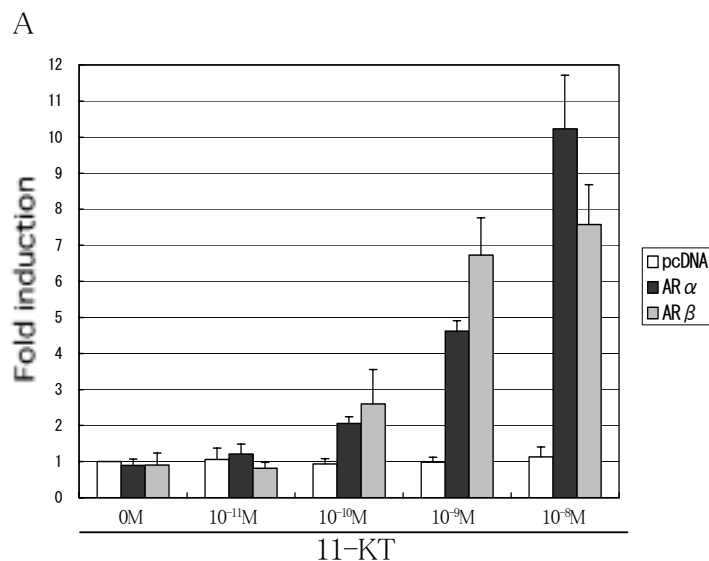


### ③ヒラメ性分化に与える抗アンドロゲン剤の影響

魚類の性分化における抗アンドロゲン剤(フルタミド)の影響を明らかにするため、XX ヒラメを高水温処理により雄へと分化誘導し、性分化時期にフルタミドを投与して雄化が抑制されるかどうか調べた。方法は、日齢 37-100 日間、高水温処理下でフルタミドを 0、10、100  $\mu\text{g/g}$  飼料の濃度で経口投与し、日齢 300 日の成魚 (各約 30 尾ずつ) の性比を調査した。その結果、フルタミド濃度 0、10、100  $\mu\text{g/g}$  飼料における雄の割合は、それぞれ 84.4、63.6、53.1%であり、フルタミドの濃度依存的に雄の割合が減少した。このことから、フルタミドは高水温処理による雄への性転換を抑制させると考えられた。今後は、抗アンドロゲン作用が報告されている内分泌攪乱物質 DDE が及ぼすヒラメ性分化への影響及び作用機構を調べる予定である。

### ④魚類における内分泌攪乱物質のモニタリングシステムの開発

魚類における内分泌かく乱物質の *in vitro* 評価系を開発するため、昨年度は高感度なエストロゲン応答レポーターアッセイ系を構築した。そこで今年度は、アンドロゲン応答レポーターアッセイ系の構築を試みた。まず、アンドロゲン応答配列とルシフェラーゼ遺伝子を連結したベクターと、すでに単離しているヒラメのアンドロゲン受容体- $\alpha$  (AR $\alpha$ ) または AR $\beta$  の強制発現ベクターをウナギ肝臓培養細胞(Hepa-E1)に導入した。その結果、AR $\alpha$  及び AR $\beta$  のどちらを導入しても、11-KT の濃度依存的にルシフェラーゼ活性が誘導され、その誘導はフルタミドにより抑制された(図 3)。これらのことより、AR $\alpha$  及び AR $\beta$  のどちらも評価できるアンドロゲン応答レポーターアッセイ系の構築に初めて成功した。この *in vitro* 評価系は、AR $\alpha$  と AR $\beta$  両方に対するアンドロゲン様及び抗アンドロゲン様物質の評価に利用できると考えられる。



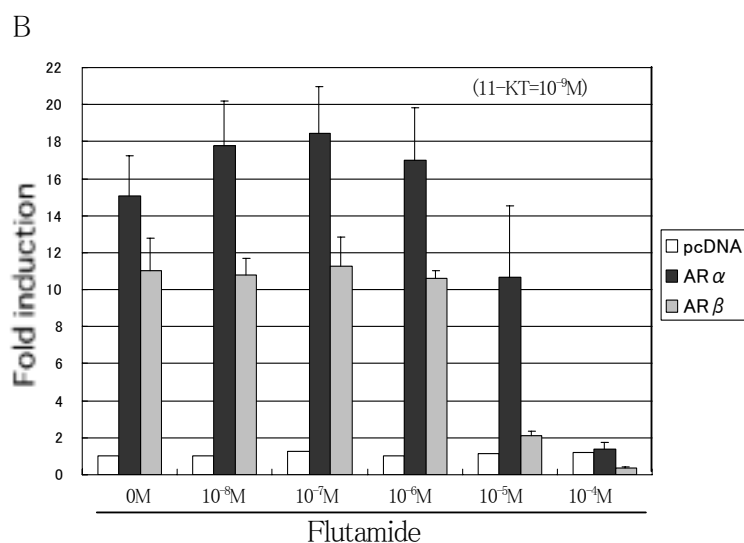


図3 ヒラメARを用いたアンドロゲン応答レポーターアッセイによるアンドロゲン(A)及び抗アンドロゲン(B)活性の測定(\*: P<0.05)

## 2. 成果の達成度

今年度は、アンドロゲン様物質を評価するための、高感度な*in vitro* モニタリングシステムの開発に成功したため、目標は十分達成できたと考えている。

## 3. 今年度の問題など

特になし。

## 4. 来年度の目的・目標

来年度は、内分泌攪乱物質の中で、アンドロゲン様及び抗アンドロゲン様物質(DDEなど)が及ぼす生物への影響及びその作用メカニズムを明らかにすることを目的とする。そのため、これらの物質が及ぼすヒラメ(海水魚)またはメダカ(淡水魚)の性分化への影響を解析する。さらに、昨年度、今年度に開発した高感度なエストロゲン、アンドロゲン応答レポーターアッセイを用いて、これら物質の*in vitro*での作用メカニズムを解明する。

## 5. 平成16年度の研究費取得状況

- (1) 戦略的創造研究推進事業(CREST), 2000-2005年, 700万円(平成16年度分), 魚類における内分泌攪乱物質の作用メカニズムの解明

- (2) 特定領域研究(公募研究), 2005-2007年, 500万円(単年度分), 温度依存性性決定の分子メカニズム
- (3) 若手研究B, 2005-2007年, 300万円(単年度分), メダカにおける性転換変異体の解析による雌化機構

## 6. 平成16年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表

#### ① 国内誌 (和文)

なし

#### ② 国際誌 (欧文)

1. Yoshinaga, N., Shiraishi, E., Yamamoto, T., Iguchi, T., Abe, S. and Kitano, T.  
Sexually dimorphic expression of a teleost homologue of Mullerian inhibiting substance during gonadal sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*.  
**Biochemical and Biophysical Research Communications**, 322, 508-513, 2004.
2. Shiraishi, E., Imazato, H., Yamamoto, T., Yokoi, H., Abe, S. and Kitano, T.  
Identification of two teleost homologs of the *Drosophila* sex determination factor, *transformer-2* in medaka (*Oryzias latipes*). **Mechanisms of Development**, 121, 991-996, 2004.
3. Nagahama, Y., Nakamura, M., Kitano, T. and Tokumoto, T. Sexual plasticity in fish: a possible target of endocrine disruptor action. **Environmental Sciences**, 11, 73-82, 2004.
4. Uchida, D., Yamashita, M., Kitano, T. and Iguchi, T. An aromatase inhibitor or high water temperature induce oocyte apoptosis and depletion of P450 aromatase activity in the gonads of genetic female zebrafish during sex-reversal. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, 137, 11-20, 2004.
5. Nakata, H., Hirakawa, Y., Kawazoe, M., Nakabo, T., Arizono, K., Abe, S., Kitano, T., Shimada, H., Watanabe, I., Li W. and Ding, X. Concentrations and compositions of organochlorine contaminants in sediments, soils, crustaceans, fishes and birds collected from lake Tai, Hangzhou bay and Shanghai city region, China. **Environmental Pollution**, 133, 415-429, 2005.

### (2) 原著論文以外による発表

なし

(3) 口頭発表

1. Kitano, T., Yoshinaga, N., Adachi, R. and Abe, S. Action of 11-ketotestosterone in gonadal sex differentiation in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). 5th International Symposium on Fish Endocrinology (Castellon, Spain). September 5-9, 2004.
2. Kawakami, Y., Kitano, T., Adachi, S., Yamauchi, K. and Ohta, H. Transcriptional activity of conger eel thyroid hormone receptors with thyroid hormone. 5th International Symposium on Fish Endocrinology (Castellon, Spain). September 5-9, 2004.
3. Kitano, T. Effects of hormones and endocrine disrupting chemicals on temperature- dependent sex determination in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Bilateral Symposium Italy and Japan (Mie, Japan). November 16-19, 2004.
4. 吉永憲史、安達竜太、山口紗貴子、安部眞一、木村武志、北野健. ヒラメの性分化における 11-ケトテストステロンの作用機構. 平成 16 年度日本水産学会大会. 2004 年 4 月 3 日.
5. 吉永憲史、白石絵吏、安部眞一、井口泰泉、北野健. 魚類におけるミューラー管抑制物質(MIS)cDNA の単離と発現解析. 平成 16 年度日本水産学会大会. 2004 年 4 月 4 日.
6. 安達竜太、吉永憲史、山口紗貴子、安部眞一、木村武志、北野健. ヒラメの性分化におけるフルタミドの作用機構. 平成 16 年度日本水産学会大会. 2004 年 4 月 2 日.
7. 川上優、北野健、有菌幸司、足立伸次、太田博己、山内皓平. 魚類甲状腺ホルモン受容体を用いたレポーターアッセイの構築. 平成 16 年度日本水産学会大会. 2004 年 4 月 2 日.
8. 白石絵吏、今里栄男、山本卓、横井勇人、安部眞一、北野健. メダカの性分化過程における Transformer-2 ホモログの発現パターン. 日本発生生物学会第 37 回大会. 2004 年 6 月 5 日.
9. 吉永憲史、白石絵吏、安部眞一、横井勇人、井口泰泉、北野健. 魚類の性分化過程におけるミューラー管抑制物質(MIS)ホモログの発現解析. 日本発生生物学会第 37 回大会. 2004 年 6 月 5 日.
10. 李瑜文、北野健、安部恵祐、江頭恒、安部眞一. イモリ精原細胞の増殖と分化に対する Estradiol-17 $\beta$ (E2)の効果. 日本動物学会第75回大会. 2004年9月10-12日.
11. 金玉姫、内田一郎、安部恵祐、北野健、江頭恒、安部眞一. イモリ精巣における occludin タンパク質の発現. 日本動物学会第75回大会. 2004年9月10-12日.

拠点形成研究B「水環境汚染物質の動態評価研究拠点の構築」  
平成16年度研究成果報告（単年度研究成果）

研究課題名：養殖ノリ色落ちによる環境モニタリング  
所属・氏名：沿岸域環境科学教育研究センター・滝尾 進

### 1. 研究目的・目標

#### H15年度～21年度における目的・目標

植物は外部環境の変化に対しさまざまな応答を示す。なかでも、エネルギー生産の場である葉緑体では反応中心複合体やアンテナ色素複合体は光条件だけではなく栄養欠乏などの各種ストレスにも応答しダイナミックな変動を示す。しかし、緑色植物ではそれらを構成する主要な色素がクロロフィルであるため、これらの構成成分の構造変化を植物の色調変化としては検出しにくい。一方、紅藻やラン藻では、アンテナ色素としてクロロフィルの他に多量の紅色フィコビルン類を含むため〔図1〕、環境変化に対し多様な「色調変化」を示す。

ノリ養殖に利用されている紅藻スサビノリは、我国の海水面養殖産業における重要な資源植物のひとつである。養殖色調は商品価値を決定も重要な形質であり、どのによるいわゆる「ノ落ち」は養殖産業における重要な課題の一つである。養殖ノリの色調形成の部分はまったく研究されてきた。

本研究の目的は、沿岸環境モニタリングのための質転換スサビノリを作第一歩として、スサビ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。

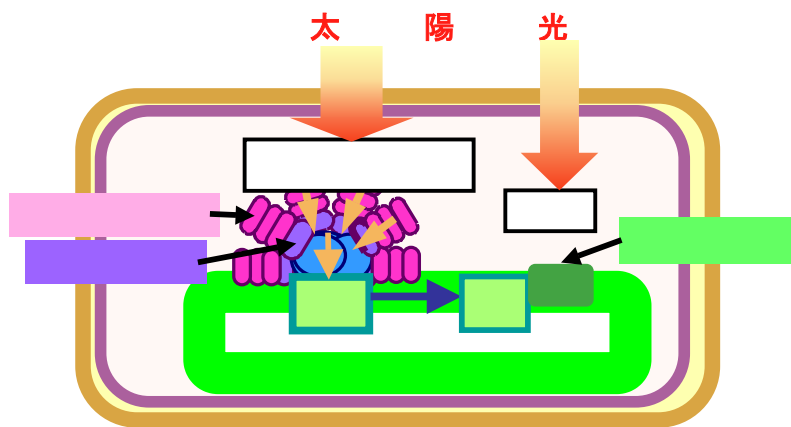


図1 紅藻のアンテナ装置

ノリの  
する最  
赤潮な  
りの色  
いて重  
が、養  
子機構  
いなか  
  
岸域水  
めの形  
出する  
ノリの

#### H16年度の目的・目標

平成15年度の研究により、スサビノリ *Ycf18* 遺伝子が窒素やリン欠乏には応答しないが、鉄欠乏により発現が増大することや鉄欠乏では葉状体が赤色化することを見出した。ラン藻や紅藻は成育波長の違いによりフィコビリソーム色素組成が変化し、藻体の色調が変化することが知られている。しかし、紅藻では金属欠乏による色調変化に関する研究例はなかった。そこで、本年度は、鉄欠乏による赤色化が鉄欠乏特異的な現象であるのかを明らかにするため、葉状体を各種欠乏条件で培養し、集光性色素組成の継時変化を調べた。

## 2. 研究成果

### (1) 前年度までの主な成果

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

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

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

いずれの条件下でもフィコビルン量およびクロロフィル量は減少したが、窒素欠乏やリン欠乏とは異なり鉄欠乏では葉状体が赤色化した。フィコエリスリンやフィコシアニン遺伝子の発現レベルは窒素欠乏とリン欠乏では培養と共に低下したが、鉄欠乏では高発現を維持していた。

- ④大腸菌内で発現させた組換え *Ycf18* タンパクを用いて抗 *Ycf18* 抗体を作成した。細胞破碎液を水溶性画分と膜画分に分けると、*Ycf18* タンパクは膜画分にのみ検出されたことから、*Ycf18* タンパクはチラコイド膜に結合している可能性が示唆された。

このように、当初は *Ycf18* を色落ち制御遺伝子の候補として研究を開始したが、その発現パターンは *Nb1A* とは異なり「色落ち」よりもむしろ「色作り」に関与する可能性が生じた。特に、鉄欠乏では色素量の低下が見られるにも関わらず、フィコビルン遺伝子が高発現していることから、*ycf18* は鉄欠乏時の赤色化に伴うフィコビリソームの再構築に関与するのではないかと考えられた。

### (2) 当該年度に得られた成果

#### ①欠乏培地への移植実験

葉状体は ESS2 培養液を付加した市販の人工海水で継代培養している。これを ASP1 完全合成培地に移し、2 週間以上培養した後、窒素、鉄、亜鉛を除去した培地に移し、3 日毎に同じ組成の新鮮培地に移植し、継代培養した。

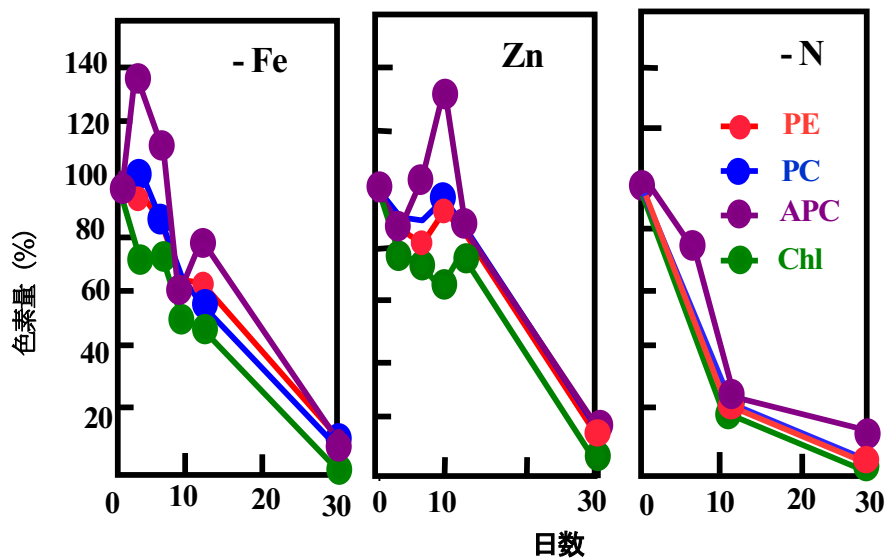
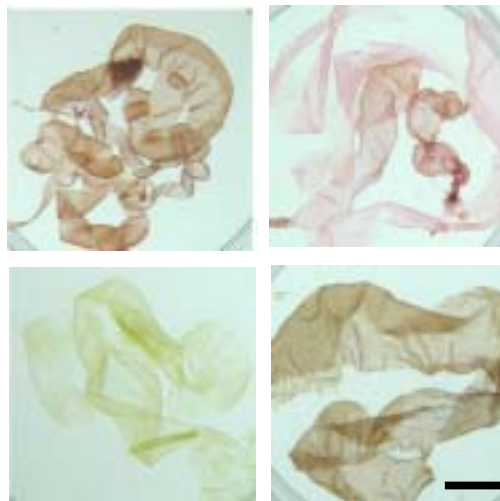


図2. 各種欠乏培地における色素量の変化

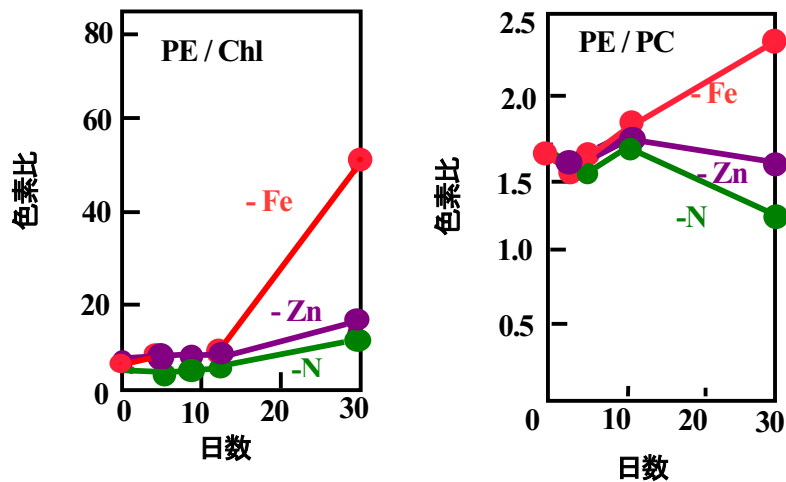
フィコエリスリン(PE)、フィコシアニン(PC)、アロフィコシアニン (APC)、クロロフィル量 (Chl)は、いずれの欠乏条件においても培養とともに減少した (図2)。しかし、培養約 2 週間後から鉄欠乏と窒素欠乏では葉状体の色調が変化し、30日後では、鉄欠乏では赤色化し、窒素欠乏では緑色化した (図3)。一方、亜鉛欠乏では顕著な変化が見られなかった。鉄欠乏では PC に対して紅色の PE の割合 (PE/PC) が増加した。また、PE/Chl 比も増加していたことの相対量の増加が赤色化の一因と考えられた (図4)。フィコビリソームはチラコイド基部のロッドが放射状に張り出した構造より (図1参照)。ロッドは PE と PC より構成され、基部側に PE は外縁部に存在する。いずれの欠乏でも各色素は培養期間を通じて減少したことから、フィコビリソームの分解機構は条件でも作動していると考えられる。鉄欠乏の場合にはこの分解機構の他に再構築機構が働いていると推定された。



鉄欠乏では顕青色が増加した (図から複数なる (図れ、PC ずれの欠いている (いずれの、しかし、鉄 築機構が

図3. 各種欠乏条件での葉状体

欠乏培養に用いた培地に含まれる重金属鉄、亜鉛の他にマンガンが多量に含まれる。この経時変化は測定したが、マンガン欠乏30日培養後の葉状鉛欠乏の場合と同様な色調変化はみられなかった。



ASPI 属のマンガン色素量なかつ培地で体は亜に顕著なかつ

## ②色落ちノリの回復

図4. 集光性色素組成の経時変化

実験

養殖場から採取した色落ちノリを通常の培地で培養すると正常なノリの色に回復するが、鉄欠乏培地では回復しないことが報告されている。そこで、色落ちノリの回復実験における鉄欠乏の効果是完全合成培地を用いて検討した。出発材料となる色落ちノリは様々な欠乏培地で誘導できる。しかし、色調変化を解析するためには、色素量は減少しているが色素組成比は正常ノリと同じ値を示す材料が最適であると考えた。光強度を通常の約20%で培養すると、色素量が約30-50%に減少した一種の色落ちノリとなり、継代維持することができた。これを通常条件に移し培養すると約2週間後には正常な色素量に回復した。一方、鉄欠乏培地に移した場合、フィコビリニン量は徐々に増大し30日後には約1.5から2倍に達したが、クロロフィル量の回復は見られず、葉状体は赤色化した。出発材料である色落ち葉状体ではPE/PCやPE/Chl(または全フィコビリニン/Chl)比は正常葉状体とほぼ同じ値を示した。一方、鉄欠乏培地ではPE/PCは変化がみられなかったが、PE/Chl(または全フィコビリニン/Chl)は増大した。この結果は、正常葉状体を鉄欠乏培地に移植した場合には両パラメータともに増大したことと異なっていた。同じ葉状体の赤色化でも出発材料によりそのメカニズムは異なることが推定された。

## 3. 成果の達成度

培地中の主要な重金属であるマンガンや亜鉛の欠乏では葉状体赤色化はおこらず、鉄欠乏に特徴的であることが確認できたことから、本年度の目標は達成されたと考える。

## 4. 今年度の問題など

葉状体の赤色化は30日以上と比較的長期間を要した。これは、色素量分析のために比較的大きな葉状体を用いたため、若い葉状体と比較して成長速度が低下していたためと考えられる。Ycf18 遺伝子の発現解析や抗体を用いたタンパク分析は少量の植物材料で行なえるので、発芽直後の若い葉状体を用いるなど赤色化の誘導期間を短縮化する方法を検討する必要がある。



## 5. 来年度の目的・目標

鉄欠乏による赤色化現象に Ycf18 遺伝子が関与しているのかを明らかにするため、次の3点について研究を行なう。1) 各種金属欠乏における Ycf18 遺伝子の発現量を調べ、その応答が鉄欠乏に特異的であるか検証する。2) 各種培養条件の葉状体より葉緑体を単離して、Ycf18 タンパクの局在部位を決定する。3) Ycf18 の機能解析のために、一昨年報告された単細胞紅藻で成功した葉緑体形質転換法を参考にして、Ycf18 欠損変異体の作出を試みる。

## 6. 研究費取得状況

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

## 7. 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) なし
- 2) 国際誌 (欧文)

代表的論文

1. Takio, S., S. Takami, and S. Hino. (1988) Photosynthetic ability of dark-grown *Marchantia paleacea* cells in suspension culture. *Journal of Plant Physiology* 132, 195-198.
2. Tanaka, K., S. Takio, I. Yamamoto and T. Satoh. (1996) Purification of the cytosolic CuZn-superoxide dismutase (CuZn-SOD) of *Marchantia paleacea* var. *diptera* and its resemblance to CuZn-SOD from chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 37, 523-529.
3. Tanaka, K., S. Takio, I. Yamamoto and T. Satoh. (1998) Characterization of a cDNA encoding CuZn-superoxide dismutase from liverwort cells of *Marchantia paleacea* var. *diptera*. *Plant Cell Physiology* 39, 235-240.
4. Takio, S., N. Nakao, T. Suzuki, K. Tanaka, I. Yamamoto and T. Satoh. (1998) Light-dependent expression of protochlorophyllide oxidoreductase gene in the liverwort, *Marchantia paleacea* var. *diptera*. *Plant Cell Physiology* 39, 665-669.
5. Suzuki, T., S. Takio, K. Tanaka, I. Yamamoto and T. Satoh. (1999) Differential light regulation of the *rbcS* gene expression in two cell lines of the liverwort *Marchantia paleacea* var. *diptera*. *Plant Cell Physiology* 40, 100-103.
6. Yamahara, T., T. Shiono, T. Suzuki, K. Tanaka, S. Takio, K. Sato, S. Yamazaki, and T. Satoh. (1999) Isolation of a Germin-like protein with manganese superoxide dismutase activity from cells of a moss, *Barbula unguiculata*. *J. Biol. Chem.* 274, 33274-33278.
7. Suzuki, T., Takio, S., Yamamoto, I. and Satoh, T. (2001) Characterization of cDNA of the liverwort phytochrome gene, and phytochrome involvement in the light-dependent and light-independent protochlorophyllide oxidoreductase gene expression in *Marchantia paleacea* var. *diptera*. *Plant Cell*

Physiol. 42: 576-582.

8. Eguchi, S., Takano, H., Ono, K. and Takio, S. (2002) Photosynthetic electron transport regulates the expression of the protochlorophyllide oxidoreductase gene in the liverwort, *Marchantia paleacea* var. *diptera* Plant Cell Physiol.43: 573-577.

#### 今年度の論文

1. Lin, S., Zhang, W., Takano, H., Takio, S. and Ono, K. (2004) Efficient plant regeneration and micropropagation from callus derived from mature zygotic embryo of *Larix gmelinii*. Plant Biotechnology 21:159-163.
2. Zhang, W., Lin, X., Takano, H., Takio, S. and Ono, K. (2004) Efficient plant regeneration from suspension cells of *Allium cepa* L. Plant Cell Rep. 23: 371-376.
3. Harashima, S., Takano, H., Ono, K. and Takio, S. (2004) Chalcone synthase-like gene in the liverwort, *Marchantia paleacea* var. *diptera*. Plant Cell Rep. 23:167-173.
4. Sakaguchi, S., Fukuda, T., Takano, H., Ono, K. and Takio, S. (2004) Photosynthetic electron transport differentially regulates the expression of superoxide dismutase genes in liverwort, *Marchantia paleacea* var. *diptera*. Plant Cell Physiol. 45:318-324.
5. Murao, K., Takamiya, M., Takano, H., Ono, K. and Takio, S. (2004) Copper deficiency induced expression of Fe-superoxide dismutase gene in *Matteuccia struthiopteris*. Plant Physiol. Biochem. 42: 143-148.
6. Fukuda, T., Sakai, M., Takano, H., Ono, K. and Takio, S. (2004) Hypermethylation of retrotransposons in the liverwort *Marchantia paleacea* var. *diptera*. Plant Cell Rep. 22: 594-598.

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. Machida, M., Takechi, K., Takio, S., Hasebe, M., Takano, H.: Relationship between plastid biogenesis and genes of peptidoglycan synthesis pathway in *Physcomitrella patens*, Moss 2004 (12-15 Sep. 2004, Germany)
2. 町田真理子・武智克彰・長谷部光泰・滝尾進・高野博嘉：陸上植物に存在するペプチドグリカン合成経路関連遺伝子 MurE の解析、第 54 回日本植物学会九州支部大会、福岡（2004 年 5 月 15-16 日）
3. 林曉飛・張文波・武智克彰・滝尾進・高野博嘉：パーティクルガン法を用いた落葉松 (*Larix gmelinii*) 形質転換系の開発、第 54 回日本植物学会九州支部大会、福岡（2004 年 5 月 15-16 日）
4. 張文波・武智克彰・高野博嘉・滝尾進：紅藻スサビノリのレトロトランスポゾン遺伝子の発現、第 54 回日本植物学会九州支部大会、福岡（2004 年 5 月 15-16 日）
5. 岩松望・坂口和明・武智克彰・高野博嘉・滝尾進：紅藻スサビノリの栄養欠乏に対するフィコビリソーム関連遺伝子の発現応答、第 54 回日本植物学会九州支部大会、福岡（2004 年 5

月 15-16 日)

6. 岩松望・坂口和明・武智克彰・高野博嘉・滝尾進：スサビノリ葉緑体遺伝子の各種栄養欠乏における発現応答，第7回マリンバイオテクノロジー学会，札幌（2004年6月17-19日）
7. 張文波・岡松里果・武智克彰・高野博嘉・滝尾進：スサビノリにおけるコピア型レトロトランスポゾンのプロトプラスチ化による発現誘導，第7回マリンバイオテクノロジー学会，札幌（2004年6月17-19日）
8. 林曉飛・張文波・武智克彰・滝尾進・高野博嘉：カラマツ (*Larix gmelinii*) の大量増殖技術とパーティクルガン法を用いた形質転換系の開発，第22回日本植物細胞分子生物学会大会，秋田（2004年8月9-10日）
9. 林孝憲・神谷昌広・下川真由美・武智克彰・高野博嘉・滝尾進：ヤナギタデのカテキン類合成遺伝子の分離と発現様式，第22回日本植物細胞分子生物学会大会，秋田（2004年8月9-10日）
10. 滝尾進：光独立栄養培養より見えてきたコケ植物遺伝子発現の光合成電子伝達制御機構，第22回日本植物細胞分子生物学会・シンポジウム「下等植物の組織培養」，秋田（2004年8月9-10日）
11. 町田真理子・武智克彰・長谷部光泰・滝尾進・高野博嘉：陸上植物に存在するペプチドグリカン合成経路関連遺伝子は葉緑体形態形成に必須か，日本植物学会第68回大会，横浜（2004年9月10-12日）
12. 滝尾進：養殖ノリ色落ちによる水環境モニタリング，「水環境汚染物質の動態評価」に関するシンポジウム，熊本（2004年11月22日）
13. 岩松望・坂口和明・武智克彰・高野博嘉・滝尾進：養殖ノリの色落ちの分子機構，第2回みらい有明・不知火シンポジウム，長崎（2004年12月11日）
14. 酒井敦・小野友里子・武智克彰・滝尾進・高野博嘉：タバコ培養細胞BY-2を用いた植物オルガネラDNAポリメラーゼの研究，第46回日本植物生理学会年会，新潟（2005年3月24-26日）
15. 武智克彰・町田真理子・林田明紘・黒岩晴子・滝尾進・長谷部光泰・高野博嘉：ヒメツリガネゴケにおけるペプチドグリカン合成系遺伝子の欠損による色素体分裂異常，第46回日本植物生理学会年会，新潟（2005年3月24-26日）

④特許：なし

研究課題名：沿岸域における生物多様性と生物資源の保全に関する研究

所属・氏名：沿岸域環境科学教育研究センター・逸見泰久

## 1. 研究目的・目標

### (1) H15 年度～21 年度における目的・目標

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

### (2) H16 年度における目的・目標

#### a. 生物多様性の維持に関する研究

- ① 有明海・八代海の生物多様性を明らかにするために、できるだけ多くの干潟で底生動物の定量調査を行い、群集構造を明らかにする。
- ② 両海域の指標種（優占種と特産種）を中心に個体群生態学的な研究を行い、各種の生息状況と生活史の把握を行う。また、資源量の減少が著しい種（激減種）については、個体数変動の環境要因を明らかにするため、個体群動態を把握すると共に、水質・底質の基礎データを収集する。具体的には、優占種として二枚貝のタイラギ、特産種として巻貝のイボキサゴ、腕足類のミドリシャミセンガイ、原索動物のナメクジウオ、激減種として二枚貝のハマグリを研究対象とする。それぞれの種に対し、定期的に定量調査を行い、個体数・成長等の年変動を明らかにする。さらに、水質・底質を測定し、個体群動態に与える環境の影響を把握する。

#### b. 二枚貝の養殖技術に関する研究

有明海・八代海に代表される日本の沿岸域は、環境悪化や漁業の衰退に直面しており、その原因として沿岸域の富栄養化が大きな問題となっている。この対策として近年、水産有用生物を用いた富栄養化物質の除去が試みられている。これは海藻や二枚貝に富栄養化物質を吸収させ、それを漁獲することで沿岸域の浄化を行う方法である。例えば、県内の御所浦では、魚類と昆布を複合養殖する試みが行われている。本研究では、沿岸域の生態系改善のために、二枚貝をバイオフィルターとした有機汚濁物質除去と複合養殖技術の確立を行う。

## 2. 平成 16 年度の研究成果

#### a. 生物多様性の維持に関する研究

- ① 有明海・八代海の生物多様性に関する研究：有明海・八代海の干潟 5 カ所（田古里川河口、塩田川河口、菊池川河口、塩屋海岸、氷川河口）で、底生動物の定量調査を行った。また、比較のために、有明海・八代海以外の干潟 2 カ所（伊万里湾、羊角湾）でも調査を行った。その結果、有明海湾奥部では、ウミマイマイ・ミドリシャミセンガイ・ヒメケフサイソガニなどが、

八代海湾奥部では、ヤベガワモチ・ハイガイ・シマヘナタリなどが確認され、いずれの海域も生物多様性が高いことが判明した。しかし、両海域の湾奥部は、富栄養化・泥化により急激に環境が悪化している地域でもある。今後は、これらの地域の生物多様性をいかに維持するかが課題になる。

- ② タイラギの資源量保全に関する研究:有明海の福岡県海域でタイラギの個体群動態を研究した。佐賀・福岡・熊本県では1999年よりタイラギの大量死が連続して起き、潜水漁ができない状態が続いていたが、2003年は大量死の時期が遅かったため、5年ぶりに潜水漁が再開した。しかし、2004年は再び夏場に大量死が起き、休漁となった(下表参照)。

タイラギの大量死の原因は、大量死が水深10m以深の浅海でのみ起きていることより「酸欠」が有力である。しかし、「有害物質の堆積」も無視できない。これは、貧酸素水塊の発生しない春季に大量死が起きた年があること、さらに貧酸素水塊の発生が確認されていない海域でも大量死が起きているためである。

また、近年は、稚貝の定着が激減している。「底質の泥化」が原因と考えられるが、これについても、できるだけ早く原因を確定し、対策を講じる必要がある。

1. 密度(春の稚貝) 1平方メートルあたりの個体数

	浅海	浅海最上部	干潟
1999年(平成11年)	不明	不明	不明
2000年(平成12年)	200? 800	—	12? 16
2001年(平成13年)	150? 200	—	6? 10
2002年(平成14年)	20以下?	6? 7	3? 4
2003年(平成15年)	100? 200	—	5? 8
2004年(平成16年)	30? 40	不明	30? 50

2. 大量死が始まった時期

	浅海	浅海最上部	干潟
1999年(平成11年)	不明	不明	不明
2000年(平成12年)	7月下旬	—	健全に生育
2001年(平成13年)	5月下旬	—	健全に生育
2002年(平成14年)	4月上旬	健全に生育	健全に生育
2003年(平成15年)	6月下旬	—	健全に生育
2004年(平成16年)	7月中旬	健全に生育	健全に生育

— : 適当な生息地が発見できず、調査を行っていない。

- ③ 本渡干潟におけるイボキサゴの個体群動態に関する研究:砂質干潟に生息する巻貝イボキサゴは各地で激減・絶滅しているが、その原因は、スナモグリ類による干潟底質の攪乱であると考えられていた。本渡干潟でもイボキサゴが減少しているが、本渡干潟にはスナモグリ類が少なく、イボキサゴ減少の原因は他にあると考えられた。研究の結果、本渡干潟では、数年に1回しか大規模な定着がないこと(卓越年級群が存在すること)、ガザミ類による捕食が定着後の生存に重要であることがわかった。
- ④ ミドリシャミセンガイの生息状況と保全に関する研究:有明海(沖端川河口・緑川河口)、奄美大島、韓国群山(有父島・ケファ)で、ミドリシャミセンガイの生息状況を調査した。有明海では生息域は広がったが、生息密度は非常に低かった。奄美大島では生息域は笠利湾の一部に限られていたが、生息密度は高かった。韓国では生息域も広く、生息密度も高かった。以上の結果より、有明海では低密度による受精の失敗によって、奄美大島では個体群の孤立によって、ミドリシャミセンガイが絶滅する可能性が高いことがわかった。
- ⑤ ナメクジウオの個体群動態に関する研究:1999年より行っている熊本県天草郡赤崎沖(有明海)での個体群動態研究を継続した。その結果、本種は幼生加入量と加入時期の年変動が大きいことがわかった。特に幼生加入の年変動は大きく、2004年年級群(2004年生まれの個体群)

は、調査地に全く加入していない。繁殖は正常に行われていた（生殖巣の発達した雌雄の割合は高かった）ことより、幼生時期の生存率と浅海底への生息地への定着率が、年によって大きく変動するものと考えられる。ナメクジウオは、このような生活史を持つため、個体群の孤立化は絶滅へ直結すると考えられる。

⑥ ハマグリ類の生息状況と資源の保全に関する研究：

ハマグリ類は、日本を始めとする東アジアの人々にとって、欠くことのできない食材である。縄文時代（約8,000年前）の貝塚から産出する貝類のベスト5は、ハマグリ・カキ類・アカニシ・アサリ・サルボウの順で、日本の多くの地域の人々がハマグリ類から多大な恩恵を受けていたことがわかる。

日本国内には、ハマグリ *Meretrix lusoria* とチョウセンハマグリ *M. lamarckii* の2種が生息する。このうち、ハマグリは、各地の干潟に最も普通に生息する種であったが、現在、多くの地域で絶滅状態であり、様々なレッドデータブックに、絶滅の危険がある種としてリストアップされている。また、外洋に面した海浜や潮下帯に生息するチョウセンハマグリ類の漁獲量も年々減少している。

今年度は、全国におけるハマグリ類の生息状況調査と遺伝子解析用の標本採集を行った。その結果、ハマグリ (*M. lusoria*) が漁獲できるほど生息しているのは、若狭湾（福井県）、加布里湾（福岡県）、周防灘（大分県：中津～杵築湾）、有明海（福岡県：筑後川河口と熊本県：緑川・白川河口）、八代海（熊本県：氷川河口、ただし、現在休漁中）、万之瀬川河口（鹿児島県）に過ぎないことがわかった（前頁の図参照）。



図1. ハマグリ *Meretrix lusoria* の生息分布の現状

- ◎ 大きな個体群が存在
- 小さな個体群が存在
- △ 絶滅寸前
- ▲ 現状不明、生息の可能性あり
- 絶滅の可能性大

b. 二枚貝の養殖技術に関する研究

マガキ・タイラギによる沿岸域浄化の研究：夏季に起こるマガキの大量斃死は繁殖への過大投資が原因であることがわかった。その対策としては、夏季まではマガキを干出養殖し、その後、垂下養殖に移す方法が有効であることがわかった。一方、タイラギは垂下養殖することで肉重が成長し、汚濁有機物質の除去に寄与することがわかった。しかし、垂下養殖の場合、付着生物が多量に付いて死亡個体が増加するため、付着生物除去対策が必要である。

3. 成果の達成度

大学生・大学院生の協力もあって、タイラギ・ハマグリ・ミドリシャミセンガイ・ナメクジウオなど、多くの種類で幅広い研究を行うことができた。また、成果は学会誌や学会講演だけでな

く、マスコミなどを通して広くアピールできた。さらに、昨年度発表した論文（ナメクジウオの個体群研究）に対してではあったが、日本動物学会論文賞を受賞することができた。

しかし、有明海・八代海の優占種や特産種の生息状況・生活史を、種別には研究できているが、それを生態系として把握できていない問題点は残った。今後は、有明海・八代海の環境悪化の原因解明と保全策の策定のためにも、生物環境を生態系として把握することが必要である。

#### 4. 平成17年度の目的・目標

優占種や特産種的生活史・生息状況と環境との関連を明確にし、有明海・八代海の生態系の解明に努める。そのためには、各種の生息環境（水質や底質、餌量など）を測定し、生活史・生息状況と環境変動（環境悪化）との関係を明らかにする。

また、沿岸域の環境悪化を改善するには、塩性湿地や干潟の再生、干潟や浅海域の覆砂・耕耘・浚渫などの工学的手法と、それをモニタリングする理学的手法が不可欠である。平成17年度は、多くの分野の研究者との共同体制をより強固なものにして研究を進めていく。

#### 5. 平成16年度の研究費取得状況

- ① 逸見泰久（分担）. 日本自然保護協会 2003年度プロ・ナトゥーラ・ファンド研究助成. 1,000千円（2003.10.-2004.9.）

#### 6. 平成16年度の研究発表, 特許状況

##### (1) 原著論文による発表

###### ① 国内誌（和文）

1. 岩崎敬二・木村妙子・木下今日子・山口寿之・西川輝昭・西榮二郎・山西良平・林育夫・大越健嗣・小菅丈治・鈴木孝男・逸見泰久・風呂田利夫・向井宏（2004）. 日本における海産生物の人為的移入と分散：日本ベントス学会自然環境保全委員会によるアンケート調査の結果から. 日本ベントス学会誌 59, 22-44.

##### (2) 原著論文以外による発表

1. 逸見泰久（2004）. 八代海の干潟と生物, 太和田紘一編. 月刊海洋：八代海 -環境と生物の動態-, pp. 53-58, 海洋出版（東京）.
2. 山下博由・佐藤慎一・金敬源・逸見泰久・長田英己・山本茂雄・池口明子・水間八重・名和純・高島麗（2004）. 「沈黙の干潟 -ハマグリを通してみるアジアの海と食の未来-」. 高木基金助成報告書. p. 85-91. 高木基金（東京）.

##### (3) 学会発表

1. Kim, T. W., Sakamoto, K., Henmi, Y. & Choel, C. J. To court or not to court: Food Availability Influences Reproductive Decisions by Male Fiddler Crabs *Uca lactea*, Brain Korea 21 conference, Seoul, Korea, 2004. 8.
2. 安井金也・池永薫・逸見泰久, ナメクジウオ生殖腺に由来する細胞の培養. 日本動物学会, 神戸市, 2004. 9.

3. 逸見泰久・山口隆男, 有明海におけるナメクジウオの生態と保全の必要性, 日本ベントス学会, 松山市, 2004. 10.
4. 上野至朗・逸見泰久, ヤエヤマシオマネキの交尾行動の季節変化, 日本甲殻類学会, 東京都, 2004. 11.
5. 山口隆男・逸見泰久, シオマネキ類の小ハサミの比較形態, 日本甲殻類学会, 東京都, 2004. 11.
6. 逸見泰久, 沿岸環境の悪化が生物に与える影響 ―博多湾および有明海・八代海を例に―, 福岡女子大学特別講演会「環境問題について学ぶ」, 福岡市, 2004. 11.
7. 逸見泰久, 有明海東部におけるタイラギ大量死の原因を探る, 日本水産学会九州支部総会学会, 福岡市, 2005. 1.
8. 逸見泰久・上野至朗・川田和博, 原始的シオマネキにおける巣穴内交尾の意義, 日本生態学会, 大阪市, 2005. 3.

#### (4) 特許状況

1. 逸見泰久・藤芳義裕 (出願中) . タイラギの海面垂下による養殖 (2003.2.24.出願, KTL-078)

#### (5) 受賞

1. Kim, T. W., Sakamoto, K., Henmi, Y. & Choel, C. J. Brain Korea 21 conference, Poster Award 2004 (2004. 8.)

以下の学会発表に対して：

- ・Kim, T. W., Sakamoto, K., Henmi, Y. & Choel, C. J. To court or not to court: Food Availability Influences Reproductive Decisions by Male Fiddler Crabs *Uca lactea*, Brain Korea 21 conference, Seoul, Korea, 2004. 8.

2. Henmi, Y. & Yamaguchi, T. Zoological Science Award 2004 (2004. 9.)

以下の2編の論文に対して：

- ・ Henmi, Y. & Yamaguchi, T. (2003) Biology of the amphioxus *Branchiostoma belcheri* in Ariake Sea, Japan. I. Population structure and growth. Zoological Science 20: 897-906.
- ・ Yamaguchi, T. & Henmi, Y. (2003) Biology of the amphioxus *Branchiostoma belcheri* in Ariake Sea, Japan. II. Period of reproduction. Zoological Science 20: 907-918.



## 平成16年度研究成果報告

### 研究課題名：沿岸域および陸水域における生物多様性とその遺伝的変異に関する研究

所属・氏名：理学部理学科・内野明徳

#### 1. 研究目的・目標

##### (1) H15年度～21年度における目的・目標

有明海・八代海およびこの海域に注ぎ込む陸水域の環境は悪化の一途にある。その原因は環境汚染物質の存在を初めとして様々であるが、このようなことにもなって、この地域の生物多様性は減少の方向にある。また、最近は外来種などの侵入によって生態系の攪乱や遺伝子汚染の問題も顕在化してきている。本研究は有明海・八代海沿岸域における生物多様性とその遺伝的変異を解明しようとするものである。15年度は手始めに、植物の細胞分裂と染色体に及ぼす内分泌攪乱化学物質の影響を知るために、「植物の体細胞分裂に及ぼす環境ホルモンの影響」をテーマとして研究を行った。16年度は「海産被子植物アマモ集団の遺伝的変異と繁殖様式」の研究を予備的に行った。今後は、このテーマを詳細に進めるとともに「菊池川における外来種ブラジルチドメグサの遺伝的変異と繁殖様式」の研究等に取り組む予定である。

##### (2) H16年度の目的・目標

海産被子植物であるアマモ (*Zostera marina* L.) の集団は浅海域に棲む生物のハビタットとしての機能が強く、産卵場機能、稚魚育成機能、飼料供給機能、水質浄化機能、底質安定化機能等を持っている。このことから、“海の揺りかご”として水産資源の維持や自然生態系保全に非常に大きな役割を果たしている。しかし、現在の日本各地では、埋め立てや開発によってアマモとアマモ場に生息する生物が極端に減少し、いわゆる“磯焼け”と呼ばれる問題を引き起こしている。本年度は最も基本的な研究として、アマモ集団の遺伝的変異の分析を行うことを目標とした。

#### 2. H16年度の研究成果

アマモは雌雄同株の多年草で、日本では北海道から九州までの潮間帯もしくは潮下帯に自生している。アマモの草体は春から夏にかけて繁茂・成熟し、夏になると枯死して海底に沈積するか流出してしまう。アマモの繁殖方法には、種子による有性生殖と地下茎による栄養生殖の2通りが知られている。本研究は、アマモ集団の遺伝的変異を分析し繁殖方法を検討した。

分析材料としては熊本県上天草市大矢野町の野釜島のアマモ集団を使用し、RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 法を用いて、同一集団内における遺伝的変異を分析した。まず、17m x 52mの集団において32個体をマッピングして採集した。つぎにCTAB法によってDNAを抽出し、DNA濃度を一定に調整した。PCR (Polymerase Chain Reaction) 法によるDNAの増幅では、20種類のランダムプライマー (10塩基) を用いた。増幅後のサンプルは15%アガロースゲルで電気泳動を行い、DNAの出現バンドを基にして統計解析ソフトSPSSによってクラスター分析を行った。

その結果、分析した32個体のうちの22個体はそれぞれ異なった泳動パターンを示し、互いに遺

伝的に異なっていた。したがって、これらの個体は有性生殖によって生じたものと考えられる。残り10個体中、4、2、2、2個体ではそれぞれ同一の泳動パターンを示した。したがって、これらの個体はそれぞれ栄養生殖による同一クローンを形成しているものと考えられる。これらの結果から、集団内の大半のアマモは種子による有性生殖によって繁殖しているものと考えられる。また、栄養生殖による繁殖の範囲は、個体の分布図から考えて、1m程度と推測される。

### 3. 成果の達成度

アマモ集団内における遺伝的変異と繁殖様式の概略を把握することができた。そのため、予備的研究としての今年度の目標は達成できたと考えている。

### 4. 今年度の問題など

分析対象集団を複数設定することと、使用するランダムプライマーの数を増やして分析精度をあげる必要がある。

### 5. 17年度の目的・目標

16年度に引き続き「海産被子植物アマモ集団の遺伝的変異と繁殖様式」の研究をを詳細に進めるとともに、「菊池川における外来種ブラジルチドメグサの遺伝的変異と繁殖様式」の研究等に取り組む予定である。

### 6. 16年度の研究費取得状況

なし。

### 7. 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。

##### ②国際誌（欧文）

- 1) Sato C., Maeda T. and Uchino A., "A new species of *Schoenoplectus* Sect. Actaeogeton (Cyperaceae)". J. Jap. Bot. 79: 23-28. 2004.
- 2) Maeda T., Sato C. and Uchino A., "Variation of *Schoenoplectus gemmifer* in morphological comparison with *S. mucronatus* and *S. triangulatus*". J. Jap. Bot. 79: 29-42. 2004.
- 3) Maeda T. and Uchino A., "Stability and variability of chromosome numbers in the Genus *Schoenoplectus* (Cyperaceae). I. *S.gemmifer*, *S. mucronatus* var. *mucronatus* and *S. trianguratus*". Cytologia, 69(1): 75-83. 2004.
- 4) Tetsuka T. and Uchino A., "Variation in seed shape and husk color in Japanese native cultivars of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). Plant Production Science, 8 (1): 60-64.

## (2) 原著論文以外よる発表

### ①著書

- 1) 内野明德 他 28 名, 熊本県の保護上重要な野生生物リスト—レッドリストくまもと 2003. 67頁. 熊本県環境生活部自然保護課. 2004.

### ②報告書

- 1) 内野明德 他 6 名, 熊本県特定希少野生動植物保護区管理計画書 (植物編). 333 頁. 熊本県希少野生動植物検討委員会・熊本県環境生活部自然保護課, 2004.
- 2) 内野明德 他 9 名, 熊本県特定希少野生動植物保護区管理計画書 (動物編). 139 頁. 熊本県希少野生動植物検討委員会・熊本県環境生活部自然保護課, 2004.

## (3) 学会発表

### ①招待講演

- 1) 内野明德, “花粉の生物学”, 日本花粉学会平成 16 年度大会特別講演 (熊本市民会館, 2004. 11. 20)

### ②一般講演

- 1) 坂本真理子・西川完途・松井正文・阪田和弘・内野明德, “九州中部におけるブチサンショウウオの生態調査 (予備的報告). 第 43 回日本爬虫両棲類学会大会. (2004. 10. 23-24, 京都大学)
- 2) Uchino, A. :”Chromosomal variation and allopatric species-formation elucidated by the H-segments in Japanese Trilliums”. International conference on “Evolutionary botany of certain plant-groups of the east Eurasian floristic element related to Japanese flora on the basis of chromosomes”. (Hiroshima, Oct. 30-31, 2004)
- 3) Wang, L. and Uchino, A. :”Cytogenetic structure and breeding system of natural populations of *Paris tetrphylla* endemic to Japan”. International conference on “Evolutionary botany of certain plant-groups of the east Eurasian floristic element related to Japanese flora on the basis of chromosomes”. (Hiroshima, Oct. 30-31, 2004)

## (4) 特許状況

なし。

## (5) 受賞

- 1) 地域環境保全功労者大臣表彰 (環境省). 2004. 6. 7.

## 平成 16 年度研究成果報告

研究課題名：環境汚染物質のバイオ・レメディエーション

所属・氏名：大学院自然科学研究科・古川憲治

### 1. 研究目的・目標

#### <平成 15 年度～21 年度における目的・目標>

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

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

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

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

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

#### <平成 16 年度における目的・目標>

平成 15 年度までに得られた Anammox 汚泥の集積に関する研究室での研究成果を基にして、平成 16 年度は次の目的・目標で研究を行う。

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

## 2. 研究方法

- 1) 50 l の容積の大型上向流カラムリアクタへの菊花状不織布の充填方法と、排水供給方法の工夫により大型の Anammox リアクタをいかに迅速に立ち上げるかを検討する
- 2) PVA ゲルビーズを流動担体とする流動床リアクタの最適運転条件の確立と、その処理特性の把握を行う。
- 3) 不織布、PVA ゲルビーズ以外の担体として、ビール製造の際の搾りかすを固形—炭化処理したモルトセラミックス、リング状に整形したアクリル製繊維担体を用いた Anammox 汚泥の集積試験を行い、Anammox 汚泥の集積にこれら担体が活用できるかどうかを検討する。
- 4) 部分亜硝酸化処理のリアクタの付着固定化担体として、網目状のアクリル製繊維担体を活用したリアクタを構築し、これによる部分亜硝酸化処理の運転条件を確立する。

## 3. 研究成果

### 1) 前年度までの主な成果

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

### 2) 当該年度で得られた成果

- ① 50 l の容積の大型上向流カラムリアクタの迅速立ち上げ  
50 l の容積の大型上向流カラムリアクタの下段と上段に充填する不織布の充填割合を下段に密に、上段に粗に変更した。加えて、リアクタ中段からも流入負荷量の 1/3 程度を分注供給する方法を採用し Anammox 汚泥の迅速立ち上げに関する検討を行った。その結果、Anammox 反応が顕著となる T-N 容積除去速度  $0.6 \text{ kg-N/m}^3/\text{d}$  程度までは、2 ヶ月の培養で達成できた。しかしその後は昨年までの結果と比べて T-N 容積除去速度の伸びが遅れた。この理由として、中間部からの基質の注入を行う注入管が Anammox 汚泥により閉塞し、基質がリアクタ内に均一に供給されなかったこと、不織布の充填密度を下部で高めたことが基質のリアクタ全体への迅速なる拡散を律速したことが原因と推察されたので、現在この知見をもとに、再度 50 l の容積の大型上向流カラムリアクタの立ち上げを図っている。
- ② PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床の構築  
不織布を充填した上向流カラムリアクタでは、リアクタ内の基質の流れが押し出し流れとなるために、流入する基質 ( $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ ) 濃度が高くなると、Anammox 反応に及ぼす基質阻害が顕著となる。この押し出し流れによる欠点を補うには、完全混合型のリアクタを用いればいい。比重が 1.03 と小さな PVA ゲルビーズを担体とする容量 2.15 l の流動床リアクタを構築した。

これまで、PVA ゲルビーズを充填した固定床型 Anammox リアクタからの Anammox 汚泥が表面付着生育したPVA ゲルビーズ0.81を取り出し流動床リアクタに投入した。処理温度35°C、上向流線速度を約 100m/h に維持した条件で、負荷量を段階的に高める方法で連続処理試験を行った。その結果、現在までに T-N 容積除去速度 0.7kg-N/m<sup>3</sup>/d を達成することに成功しており、現在さらに負荷量を高めより高い T-N 容積除去速度の達成をめざして研究を継続している。

### ③ 新規担体による Anammox 汚泥の集積

不織布、PVA ゲルビーズ以外の Anammox 汚泥の担体として活用が期待できるビール製造の際の搾りかすを固形炭化処理したモルトセラミックスと、リング状に整形したアクリル繊維製担体が Anammox 汚泥の集積培養に適用できるかどうか上向流カラムリアクタを用いて連続処理試験で検討した。容量 1.63 l のリアクタに 0.65 l のモルトセラミックス（粒径：2-4mm、比重：1.8、平均孔径：300 μm）とスペーサーとしての内径 4mm、外径 6mm、長さ 25mm のガラス管 180 本充填した固定床で、Anammox 汚泥の集積試験を行った。最初の 2 ヶ月は他の担体と同程度の立ち上がりを示したが、その後は Anammox 活性が伸び悩み、0.2 kg-N/m<sup>3</sup>/d 程度で頭打ちとなった。この原因として、使用したモルトセラミックスの粒径が 2-4mm と小さすぎたことが考えられ、現在もっと大きな粒径のモルトセラミックスを使った試験を実施中である。

リング状に整形したアクリル製繊維担体を充填した上向流カラムリアクタ（容量 20l）を用いて連続処理試験で検討した。その結果、Anammox 汚泥はリアクタ下部に重点的に生育し、その増殖が上部までなかなか広がらないことが原因となって、これも T-N 容積除去速度が 0.2kg-N/m<sup>3</sup>/d 程度で頭打ちとなった。これを解消する目的で、現在流入基質濃度を高めるのではなく、基質の流入量を増加させたり、液循環を行う方法でより高い活性を得ることを目指して研究を継続している。

### ④ 部分亜硝酸化処理に関する研究

Anammox 反応を NH<sub>4</sub>-N を高い濃度で含有する排水の処理に適用しようとする、Anammox に先立って先立つて NH<sub>4</sub>-N の半量を NO<sub>2</sub>-N に酸化処理(部分亜硝酸化)が必要となる。この部分亜硝酸化処理法として、網目状のアクリル製微生物付着固定化担体を充填したリアクタを構築し、硝化活性汚泥を担体に付着固定化して部分亜硝酸化処理の条件を実験的に決定した。

決定した部分亜硝酸化の運転条件は、NH<sub>4</sub>-N 容積負荷量 0.5kg-N/m<sup>3</sup>/d で、槽内温度 35°C、pH7.5-7.7、DO2-3mg/l であった。この運転条件下で、沈殿池のない簡単なリアクタで、安定して部分亜硝酸化を達成できることを明らかにした。(図-1)

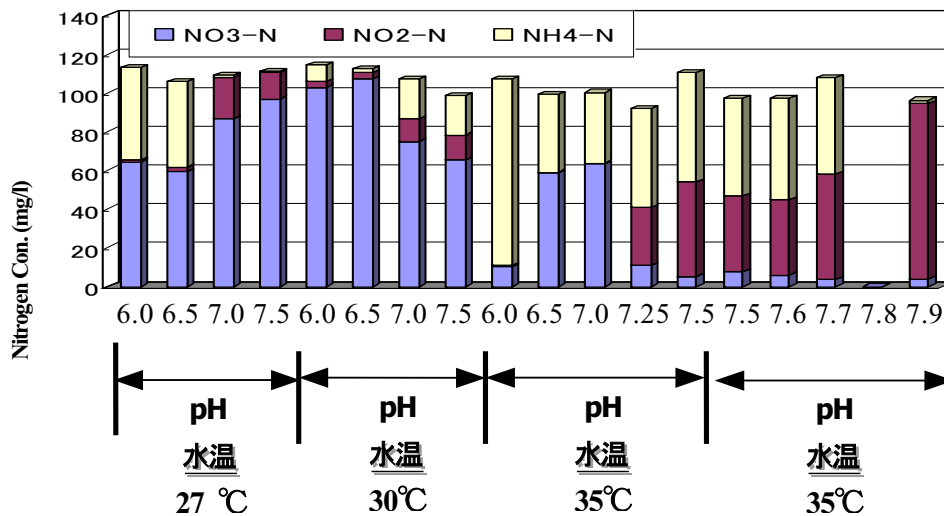
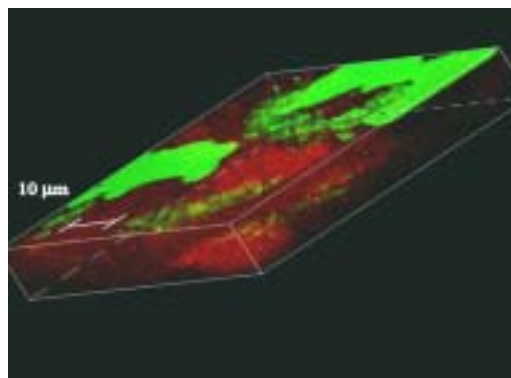


図-1 部分亜硝酸化処理に及ぼす水温と pH の影響

この部分亜硝酸化処理の長期安定性を検討する中で、偶然に一槽で NH<sub>4</sub>-N が除去されることを発見した。この時の付着固定化担体内部の汚泥の菌相を分子生物学的な方法で解析した結果、付着固定汚泥の内部に Anammox 菌が生息することを認めた(図-2 参照)。部分亜硝酸化処理で、付着固定化内部で Anammox に適した環境が整い Anammox 菌が硝化活性汚泥内部で生育したことが一槽での NH<sub>4</sub>-N の除去に繋がった。この新規な処理法を、Single-Stage Nitrogen Removal Using Anammox and Partial Nitritation(SNAP)法と名づけた。現在、その処理特性を明らかにする研究を実施中である。

#### 4. 成果の達成度

これまで、長年にわたって研究室で取り組んできた Anammox に関する研究が、50 l の容量のカラムリアクタの運転成功で大量の Anammox 汚泥が入手できるようになり、これまで以上の速度で研究が進捗することになった。不織布を活用した Anammox 汚泥の培養集積法は、広く知られるようになり、多くの企業が研究機関で活用されるようになってきた。この結果、日本における Anammox 研究の輪が広がり、これまでオランダと EC からしか報告のなかった Anammox に関する研究論文が日本からも出るような状況となってきた。昨年度からはじめた PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床の構築に関する研究は、当初装置的なトラブルや、運転立ち上げ方法の確立に苦労したが、活性が高まって以来は順調に推移しており、今後不織布を活用した Anammox リアクタで達成が難しかった高い基質濃度下での高い処理性能が達成できるものと期待している。



図—2 SNAP 法における付着固定化汚泥の共焦点レーザー走査電子顕微鏡写真  
FISH 法により Anammox 菌を赤色に、アンモニア酸化細菌を緑色に蛍光染色した。汚泥の表層部にアンモニア酸化細菌が、内部に Anammox 菌が分布している。

Anammox に先立つ部分亜硝酸化に関しては、汚泥付着能力に優れた網目状のアクリル製繊維担体を充填したリアクタを構築し、部分亜硝酸化処理条件を実験的に決定した。その長期安定性を検討する中で、一槽でアンモニアを除去できる SNAP 法を開発することができ、大きな成果に結びつき、今後の進展が期待できる。

## 5. 今後の問題点

これまでは、研究室で合成の排水を使用した試験研究が主体であった。Anammox を活用した窒素除去技術の開発には、これからは実排水を使った研究に展開させていかなければならない。Anammox の処理対象となる実排水としては、家畜糞尿排水、ごみ埋立地浸出水、し尿処理排水等のアンモニア濃度の高い排水を考えているが、これら排水を入手し、ベンチスケールの試験装置で適用の可能性にかんする研究を推進させたいと考えている。パイロット規模の実排水を使った研究では、企業との共同研究が必須となるが、現在3社から共同研究の申し込みがあり、次年度以降このパイロット試験を開始し、実排水を処理する上での問題点を明らかにし、Anammox や SNAP の早期実用化に結び付けたいと考えている。

## 6. 来年度の目的・目標

- 1) 50 l リアクタのチャンピオンデータの確立を目指して。これまでの試験で得られた知見をもとに、短期間で、高い窒素除去速度を達成する。
- 2) PVA ゲルビーズを担体とする Anammox 流動床で、高い窒素除去速度が達成できるかどうかを検討するとともに、その運転特性を生かした、高濃度アンモニア含有排水への適用を図る。
- 3) 新規担体を使った Anammox リアクタを構築する。
- 4) SNAP 法の処理能を明らかにするとともに、SNAP 法の迅速立ち上げ法の確立、それに実排水への適用で問題となる、有機物濃度の影響について実験的に検討する。



## 7. 研究費獲得状況

(Anammox 関係で獲得した外部資金)

<科研費>

基盤研究 (B) (1)代表：部分亜硝酸化と Anammox の組み合わせによる新規窒素除去プロセスの開発、平成 15 年度 510 万円、平成 16 年～18 年

<財団>

住友財団：210 万円、代表、嫌気性アンモニア酸化 (Anammox) の迅速立ち上げ法の確立に関する研究、平成 15 年～16 年

<奨学寄附金>

アサヒビール株式会社、100 万円

株式会社 クラレ、100 万円

## 8. 研究発表、特許状況 (Anammox に関する平成 16 年度の成果)

### 1) 国内誌 (和文)

- ・ 今城麗、安井英育、石田浩昭、藤井隆夫、杉野浩幸、古川憲治：活性汚泥からの ANAMMOX 微生物の集積培養、水環境学会誌、Vol. 27, No. 6, pp. 413-418 (2004. 6)
- ・ 古川憲治：嫌気性アンモニア酸化 (Anammox) の発見とその後の研究開発動向、水環境学会誌、Vol. 27, No. 7, pp. 2-7 (2004. 7. 10) ・ ・ ・ 招待論文

### 2) 国際誌

- ・ Joseph D. Rouse, Daisuke Yazaki, Yingjun Cheng, Toichiro Koyama and Kenji Furukawa: Swim-bed Technology as an Innovative Attached-growth Process for High-rate Wastewater Treatment, Japanese J. Water Treatment Biology, Vol. 40, No. 3, pp. 115-124 (2004)

### 3) 特許

- ・ アンモニア含有排水の処理剤、処理方法、及びその装置、特願 2004-100414

### 4) 原著以外による発表

- ・ Pham Khac Lieu, Hiroyuki Tokitoh and Kenji Furukawa: Partial Nitritation of Synthetic Landfill Leachate in an Attached Immobilized Reactor with Acryl Fiber Biomass Carrier, Proceeding of 2<sup>nd</sup> Seminar on Environmental Science and Technology Issues Related to the Urban and Coastal Zones Development, pp.192-199(2004.9)
- ・ K. Furukawa, H. Tokitoh, Pham Khac Lieu and T. Fujii, Single -Stage Nitrogen Removal Using Anammox and Partial Nitritation, Proceedings of Sino-Japanese Forum on Protection and Restoration of Water Environment Beijing 2004, pp. 179-186 (2004. 10. 16)
- ・ Pham Khac Lieu, Hiroyuki Tokitoh and Kenji Furukawa: Nitrification of Landfill Leachate Using Acryl Resin Fiber as an Attached Material, Proceeding of the Third Asian-Pacific Landfill Symposium in Kitakyushu 2004, pp.483-489(2004.10.27-29)
- ・ K. Furukawa, J.D. Rouse, T. Takagi, T. Fujii and H. Sugino: Treatment Potential for the Anammox Process, Proceeding of 2004 ASA-CCSA-SSCA International Annual Meetings,

CD-ROM (2004. 11. 2)

- J.D. Rouse, T. Fujii, H. Sugino, H. Tran, and K. Furukawa : PVA Gel Beads as a Biomass carrier for Anaerobic Oxidation of Ammonium in a Packed-Bed Reactor 5<sup>th</sup> International Exhibition & Conference on Environmental Technology, CD-ROM, Greece(2005.2.3-6)

#### 5) 口頭発表

<日本農芸化学会西日本支部大会>

- 島村宗孝, 杉野浩幸, 古川憲治, 藤井隆夫 1 : 嫌気性アンモニア酸化菌由来ヒドラジン酸化酵素の限定分解ペプチドのアミノ酸配列、平成 16 年度日本農芸化学会・西日本・北海道支部合同大会講演要旨集、p. 30(2004. 10. 8-9)
- 井上剛志, 杉野浩幸, 古川憲治, 藤井隆夫:嫌気性アンモニア酸化と部分亜硝酸化を用いた一段階窒素除去 (SNAP) リアクタ中の菌相解析、平成 16 年度日本農芸化学会・西日本・北海道支部合同大会講演要旨集、p. 37(2004. 10. 8-9)

<日本水処理生物学会>

- Tran Thi Hien Hoa、Liu Zhi jiun、Luong Ngoc Khanh、Kenji Furukawa : Nitrogen Removal Using Attached Immobilized Anammox Sludge on PVA gel Beads、日本水処理生物学会別巻 24 号、p. 86(2004. 11. 11)
- 宅和正治、稲富泰彦、劉志軍、古川憲治 : 50L Anammox リアクタの迅速立上げに関する研究、日本水処理生物学会別巻 24 号、p. 87(2004. 11. 11)
- Pham Khac Lieu、Hayato Homan、Kenji Furukawa : Single-stage Nitrogen Removal Using Anammox and Partial Nitritation (SNAP) in Treatment of Synthetic Leachate、日本水処理生物学会別巻 24 号、p. 88(2004. 11. 11)
- 波戸崎律子、Pham Khac Lieu、古川憲治 : SNAP 法による  $\text{NH}_4\text{-N}$  の除去特性、日本水処理生物学会別巻 24 号、p. 103(2004. 11. 11)

## 平成 16 年度研究成果報告書

### 研究課題名：

- (A) 環境汚染物質の生物モニタリング (重松 亨)
- (B) 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、重松 亨

### 1. 研究目的・目標

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するプロセスを確立することにより、環境負荷の軽減を図ろうとするものである。

また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ことを目標とする。

### 平成 16 年度の目的・目標

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、今年度は①家畜糞尿および生ゴミ混合物のメタン発酵によるサーマルリサイクル、②大豆煮汁からの機能性食品の製造およびメタン発酵による有効利用技術の開発を実施した。

## 2. 研究成果

### 2.1 家畜排せつ物および生ゴミのメタン発酵による利活用

#### (1) 緒言

菊池管内は、熊本県で最も畜産農家の多いところである。家畜糞尿の処理の現状は不明であるが、平成 16 年 11 月から完全施行された「家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律 (家畜排せつ物法)」により適正に処理もしくは利活用しなければならない。一般的には堆肥化により肥料として利用されているが、九州では生産される堆肥量が需要量を大きく上まっている。そのためにバイオマスニッポン総合戦略では、完熟堆肥を製造するか、もしくはメタン発酵などによりエネルギーとして回収する方針が打ち出されている。

これらの現状を踏まえ、菊池管内で発生する家畜糞尿だけでなく、生ゴミも同時にメタン発酵し、サーマルリサイクルの可能性を調べた。

#### (2) 実験材料および方法

a) 使用汚泥：研究室で馴養している高温消化汚泥を用いた。

b) 人工生ゴミ：人口生ゴミは、リンゴ、グレープフルーツ(皮)、オレンジ(皮)、バナナ(皮)、ニンジン、キャベツ、ジャガイモ、挽肉、魚(骨付き)、卵、米飯、パン、うどん、中華麺を用いて調製した。ミキサーで粉砕した後、豚糞尿や乳牛糞尿に混合した。

c) 豚糞尿：豚糞および豚尿は熊本県下益城郡の個人農場から提供された。豚糞は豚舎からスクレッパーによりかき出されたものである。豚尿は豚舎に添えつけられたピットに溜められており、この尿を既設のメッシュ濾過装置により粗い固形物だけを除去した後、使用した。研究室において豚糞および豚尿を体積比 1 : 2 で混合し、ザル(目 : 2.5 mm × 2.5 mm)とヘラを用いてメッシュろ過して豚糞尿搾汁液を調製した。

d) 乳牛糞尿：乳牛糞尿は畜舎から地下の貯蔵庫に集められたものを採取し、研究室においてザル(目 : 2.5 mm

×2.5 mm)とヘラを用いてメッシュろ過して乳牛糞尿搾汁液を得た。

e) 豚糞尿搾汁液、乳牛糞尿搾汁液および無希釈生ゴミ(19 : 12 : 1)の混合廃水

人間一人当たりの生ゴミ排出量を 0.25 kg/d と仮定して、菊池管内の人口数、豚数、乳牛頭数から豚糞尿搾汁液、乳牛糞尿搾汁液および生ゴミの混合比を 16:27:1 になるように混合した (重量比)。混合廃水の比率は熊本県菊池管内をモデルにした。

f) 混合廃水の高温メタン発酵

Fig. 1 は使用したメタン発酵装置の写真および概略図を示している。リアクターは、機械攪拌型発酵槽で実容積 2.0 l であり、外部ジャケットに恒温水を流すことにより温度を 53°C に制御できるように、また槽内液の pH は pH コントローラーにより 7.5 に制御できるようにした。一日に一回の draw-and-fill 方式で処理試験を行った。



Fig.1 使用したリアクター写真および概略図

(3) 実験結果および考察

a) 生ゴミ、豚糞尿搾汁液および乳牛糞尿搾汁液の組成

メタン発酵処理試験に用いた豚糞尿搾汁液、乳牛糞尿搾汁液および生ゴミの混合廃水 (混合比 16:27:1) の組成を Table 1 に示した。

b) 豚糞尿搾汁液、乳牛糞尿搾汁液および生ゴミの混合廃水の高温メタン発酵処理試験

菊池管内をモデル地区として、豚糞尿搾汁液、乳牛糞尿搾汁液および生ゴミを 19 : 12 : 1 の割合で混合した。この混合廃水を高温メタン発酵処理した。

TVS 容積負荷 (有機物負荷) を 2.0 g//d から 8.0 g//d まで段階的に上げた。有機物負荷 6 g//d の条件では、VSS 分解率は約 40%、ガス発量は 250 ml/g-TV S、有機酸が約 2000 mg/l で安定していた。そこで有機物負荷 8 g//d に上げたところ、VSS 分解率は若干低下し、有機酸濃度が一時的に 4200 mg/l に上昇したが、その後 2000 mg/l まで低下した。1 g 有機物当たりガス発生量は 250 ml/g-TV S と一定しており、有機物負荷 8 g//d においてもメタン発酵が行えるものと判断した。また、約 60 日間にわたって処理試験を行ったが、各負荷においてバイオガス中に H<sub>2</sub>S は検出されなかった。そこで有機物負荷を 10 g//d に上げたが、ガス発生量が 150 ml/g-TV S に減少し、有機酸が 4500 mg/l まで蓄積した。

本結果 (Fig. 2 参照) から混合物の最大有機物負荷は 8 g//d と結論した。この時の VSS 分解率は約 40%であった。

Table 1 生ゴミ、豚糞尿搾汁液および乳牛糞尿搾汁液の混合廃水の成分組成

pH (-)	:	7.05
TS(g/l)	:	68.8
TVS (g/l)	:	54.4
SS (g/l)	:	46.5
VSS (g/l)	:	38.2
T- VFA(mg/l)	:	8053
Lact		2087
Form		574
Acet		3825
Prop		1077
Buty		490
TOC(mg/l)	:	4550
IC(mg/l)	:	1700
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)		806

(分析日, 14/Jan/05)

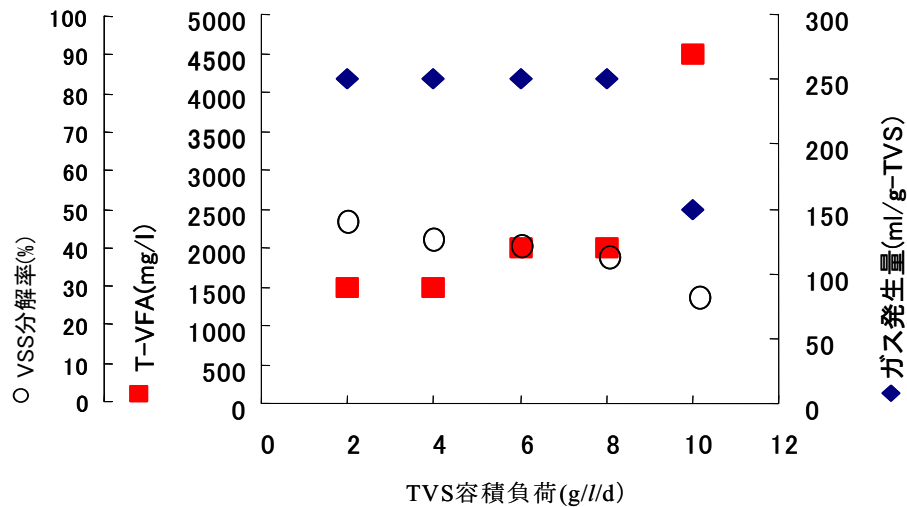


Fig. 3 高温メタン発酵の処理性能に及ぼす有機物負荷の影響

#### c) 高温メタン発酵によるエネルギー回収と炭酸ガス発生抑制

菊池管内の年間の家庭生ゴミ排出量、乳牛糞尿排せつ量および乳牛糞尿排せつ量を 2003 年の人口とそれぞれの頭数から算出すると、大凡 14,700 トン、393,100 トン、235,100 トンとなる。糞尿量とその搾汁液量を等量と仮定して年間バイオガス発生量を算出すると以下のように 8,743,440 m<sup>3</sup>/y となる。

$$642,900 \text{ ton/y} \times 54.4 \text{ kg-TVS/ton} \times 0.25 \text{ m}^3/\text{kg-TVS} = 8,743,440 \text{ m}^3/\text{y}$$

この時のメタン含量は約 60% であるので、メタン発生量は 5,246,064 m<sup>3</sup>/y となる。メタンの低発熱量を 8567 kcal/m<sup>3</sup> とすると 4.49 × 10<sup>10</sup> kcal/y のエネルギーが回収できることになる。

$$5,246,064 \text{ m}^3/\text{y} \times 8567 \text{ kcal/m}^3 = 4.49 \times 10^{10} \text{ kcal/y}$$

重油の低発熱量を 10,606 kcal/kg として、重油量に換算すると約 4500 トン/年となり、炭酸ガスとして約 12,000 トン/年の発生抑制にもつながる。

$$4500 \text{ トン/y} \times 2.65 \text{ トン CO}_2/\text{トン重油} = 12,000 \text{ トン/年}$$

各地域ごとに廃棄物系バイオマスからのエネルギー回収を行うことは、環境保全だけでなく地球温暖化防止にもつながることが分かる。

## 2.2 大豆煮汁からの機能性食品の製造

### (1) 緒言

大豆煮汁は BOD 濃度が 30,000~40,000 ppm もある高濃度有機性廃水であり、年間 450,000~900,000 トンも排出されると推定される。現在は活性汚泥法などにより処理されており、そのために処理コストが高く、しかも余剰汚泥が発生し、その処分が大きな問題となっている。一方で、大豆煮汁にはイソフラボンなどの生理活性物質が含まれると考えられ、種々の生理活性を有する機能性食品の素材にもなりうる。そこで我々は、大豆煮汁を用い、アルコール飲料や醸造酢などの健康食品を製造する技術の開発を行った。また、健康食品生産後の残液および需給バランスとして残存する大豆煮汁の、不織布を充填した安価な固定床型リアクターを用いたメタン発酵によるサーマルリサイクルに関する技術も合わせて開発した。

## (2) 実験方法

### a) アルコール飲料の製造

アルコール飲料を製造する場合は、大豆煮汁に糖源および酵素源としての麴と酒母（酵母）を添加し、25℃で3日間静置培養し、製造した。麴の添加量は大豆煮汁と酒母の合計量400 mlに対して13%、酒母の添加量は酵母生菌数として $3.75 \times 10^8$  cells/400 mlとなる量とした。麴としては、清酒麴、焼酎麴、味噌麴（米）、味噌麴（麦）の4種類の麴を使用し、酵母は焼酎酵母および清酒酵母を使用した。

### b) 醸造酢の製造

醸造酢を製造する場合は、最初にフラスコ振とう培養を行い、①大豆煮汁にエタノールと前培養後の酢酸菌を添加し好気培養したもの（以後、「醸造酢」とした）、②大豆煮汁をプロテアーゼ処理後、エタノールと酢酸菌を添加し好気培養したもの（以後、「醸造酢(酵素処理)」とした）、③アルコール飲料に酢酸菌を添加し好気培養したもの（以後、「醸造酢(アルコール発酵)」とした）、の3通りで比較した。

### c) 生理活性評価

得られたアルコール飲料や醸造酢の抗ラジカル活性は、過酸化脂質ラジカルの生成抑制をルミノール依存性化学蛍光法により測定し、発光を50%抑制する量をIPOX<sub>50</sub>として評価した。血圧上昇抑制作用は、アンジオテンシンI変換酵素(ACE)の阻害活性を測定し、ACE活性を50%阻害する量をIC<sub>50</sub>として評価した。

## (3) 実験結果

### a) アルコール飲料および醸造酢の製造

最初に、麴としては焼酎麴を、酵母は焼酎酵母を使用し、アルコール飲料および醸造酢の製造条件の検討をフラスコスケールで行った。大豆煮汁に13%の焼酎麴と酒母（焼酎酵母）を添加し、25℃で3日間静置培養することにより、エタノール濃度が約5% (v/v)のアルコール飲料を製造することができた。次に、得られたアルコール飲料を原料とする場合も含めて、実験方法に記載した3通りの方法でフラスコ振とう培養を行い醸造酢を製造した。その結果、表1に示したように、いずれの方法においても約48 g/l（生成収率92%）の酢酸が生成し、大豆煮汁から容易に醸造酢を製造できることがわかった。そこで、清酒麴、焼酎麴、味噌麴（米）、味噌麴（麦）の4種類の麴を用いてフラスコ振とう培養によりアルコール飲料および醸造酢を製造し、得られた製品の官能評価を行った。

まず酵母としては焼酎酵母を用い、麴の違いによ

る製品の特徴の違いを評価した。アルコール飲料に関しては清酒麴を用いた製品が香り・味ともにまとまりのある良好な評価を得、醸造酢に関しては味噌麴(米)を用いた製品がまとまりがあつて調和がよく、高い評価を得た。

次に、使用する酵母の影響を調べるため、焼酎酵母および清酒酵母を使用してアルコール飲料および醸造酢を製造し、得られた製品の官能評価により比較した。清酒麴を用いてアルコール飲料を、味噌麴（米）を用いて醸造酢を製造し官能試験を行った結果、清酒酵母を用いた方が香り、味の両面で調和の良い製品を製造できることがわかった。

### b) 生理活性評価

大豆煮汁、プロテアーゼ処理（酵素処理）した大豆煮汁、アルコール飲料、3通りで製造した醸造酢の生理活性を測定し、その結果を表2に示した。原料の大豆煮汁および大豆煮汁にエタノールと酢酸菌を添加して製造した醸造酢にはACE阻害活性が見られなかったが、プロテアーゼ処理やアルコール発酵を行うことによりACE阻害活性を有するようになった。これは酵素剤のプロテアーゼあるいは麴中のプロテアーゼの作用により大豆煮汁

表1 製造した醸造酢の酢酸濃度

醸造酢の種類	酢酸濃度(g/l)
醸造酢	48.2
醸造酢（酵素処理）	48.4
醸造酢（アルコール発酵）	48.1

中のタンパク質がペプチドに変化したためと考えられた。SDS-PAGEによりタンパク質の分子量変化を確認した結果、ACE 阻害活性が見られたものはタンパク質が分解していることが確認できた。

抗ラジカル活性に関しては大豆煮汁中に高い活性が見られ、イソフラボンなどのポリフェノールが含まれると考えられた。大豆煮汁の高い抗ラジカル活性は、アルコール飲料や醸造酢の製造過程で低下することはなかった。

したがって、大豆煮汁から、高い ACE 阻害活性や抗ラジカル活性などの生理活性を有するアルコール飲料および醸造酢の製造が可能であることがわかった。

表2 アルコール飲料や醸造酢などの生理活性評価

	タンパク 質(mg/ml)	IC <sub>50</sub> (ml/ml)	IPOX <sub>50</sub> ( l/ml)
大豆煮汁	2.44	N.D.*	0.59
酵素処理煮汁	2.51	0.02	0.54
アルコール飲料	3.20	0.05	0.61
醸造酢	2.16	N.D.	0.50
醸造酢(酵素処理)	2.76	0.02	0.53
醸造酢 (アルコール発酵)	3.10	0.04	0.56

\*N.D., not detected.

### 2.3 有明海干潟底泥微生物群集および硫黄代謝経路の解析

#### (1) 緒言

閉鎖性海域である有明・八代海域は、わが国の干潟の約57%にも達する広大な干潟を有している。この干潟の持つ高い浄化能力により、海域環境が保たれてきたと考えられている。しかし昨今、干潟環境の悪化が顕著になり、海域環境も悪化の一途を辿っている。干潟環境の改善方法の一つとして干潟耕耘が実施され始めている。干潟を耕耘することで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方法である。しかし、干潟耕耘の微生物に及ぼす効果を調査した例はない。そこで、本研究では干潟耕耘試験による底質微生物群集に対する影響を解析した。

#### (2) 実験方法

2004年8月11日から13日にかけて熊本港試験サイトで干潟耕耘を実施した。耕耘区から、7月27日(耕耘前)、8月13日(耕耘直後)、8月16日(3日後)および8月27日(14日後)に採泥し、上層(表層～-1.0 cm)、中層(-3.0～-7.0 cm)、下層(-18.0～-22.0 cm)に分画したものを底質試料とした。比較として耕耘しない場所からも同様にサンプリングした。底質試料を遠心分離した上澄みを間隙水試料としてSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の分析に供した。沈殿からDNAを抽出し、微生物群集解析を行った。

### 3.結果と考察

底質間隙水中のSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>分析結果をTable 1に示した。耕耘前後では、上層のSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度が高く、下層で低いというSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度の勾配が見られた。この結果は、表層付近では好気性の硫黄酸化細菌がSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>を生成し、下層では、硫酸塩還元細菌の作用でSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が消費されていることを示唆するものである。しかし耕耘直後では、垂直方向の濃度勾配が緩和されていることがわかった。耕耘の効果で供給された酸素により硫酸塩還元細菌の活性が低下したためと考えられる。耕耘3日後以降では、耕耘前の濃度勾配に戻っていることから、一旦低下した硫酸塩還元細菌の活性が戻ることを示唆された。

Table 1 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>分析結果

		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> [mg/l]			
		2004/7/27	2004/8/13	2004/8/16	2004/8/27
		耕耘前	耕耘直後	耕耘3日後	耕耘14日後
耕耘区	上層	1370.45	1121.72	1323.17	1621.23
	中層	1247.11	1187.50	889.44	940.83
	下層	916.16	983.99	706.49	784.60
比較対照区	上層	1308.78	-	1495.84	1487.62
	中層	1119.66	-	1134.05	1203.94
	下層	796.93	-	1014.83	768.16

次に、硫酸塩還元細菌および硫黄酸化細菌に特有な APS reductase 遺伝子を底質から抽出した DNA からクローン化し、系統解析を行った(Table 2)。耕耘の有無およびサンプルを採取した層の深さに関わらず、光合成細菌で硫黄酸化を行う *Allochromatium vinosum* が主な最近縁種として得られた。また、脱窒・硫黄酸化を行う *Thiobacillus denitrificans* と硫酸塩還元細菌である *Desulfovibrio indonensis* も得られた。細菌全てを標的とした 16S rRNA 遺伝子の解析の結果、8月13日の耕耘区には、好気性の細菌が完全に優占することがわかっている<sup>1)</sup>。以上のことから、干潟底質中には、硫黄酸化細菌と硫酸塩還元細菌が共存しており、硫黄代謝を伴う有機物分解サイクルを形成している可能性が示唆された。耕耘することで、一旦好気性細菌が優占するが、硫黄代謝細菌がなくなるのではなく、耕耘14日後には元の状態に戻ることが示唆された。また、古細菌の 16S rRNA 遺伝子を標的とした微生物群集解析の結果、得られたクローンは全てメタン生成細菌に近縁であった。このことから、干潟底質中ではメタン発酵的に有機物を分解する経路も存在することが示唆された。

Table 2 微生物群集解析結果

日付	サンプル名	クローン数	最近縁種	相同性
7月27日 (耕耘前)	耕耘・上層	9	<i>Allochromatium vinosum</i>	83-85%
		5	Uncultured bacterium clone DR9IPCAPSCT1	83-84%
		2	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	85-89%
	耕耘・中層	9	<i>Allochromatium vinosum</i>	82-86%
		2	Uncultured bacterium clone DR9IPCAPSCT1	84%
	耕耘・下層	6	<i>Allochromatium vinosum</i>	84-86%
1		<i>Thiobacillus denitrificans</i>	87%	
8月13日 (耕耘直後)	耕耘・上層	14	<i>Allochromatium vinosum</i>	83-95%
		16	<i>Allochromatium vinosum</i>	81-88%
	耕耘・中層	1	Uncultured bacterium clone DR9IPCAPSCT1	83%
		1	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	81%
	耕耘・下層	15	<i>Allochromatium vinosum</i>	82-86%
		3	Uncultured bacterium clone DR9IPCAPSCT1	84-85%
1		<i>Thiobacillus denitrificans</i>	90%	
	1	<i>Desulfovibrio indonensis</i>	83%	

### 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. 今年度の問題など

可能ならドクターコース進学を目指す私費留学生などが欲しい。

#### 5. 来年度の目標

領域 (A) では、イオウサイクルを明らかにし、微生物生態系と底生・水生生物の生態系の相互作用に言及したい。領域 (B) では、メタン発酵した嫌気性処理液の利活用や環境ホルモンの問題に関して検討する。また、食品や醸造工程から排出される廃棄物系バイオマスから機能性食品を製造し、その生理活性や作用機構を明確にしていく。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により環境負荷の軽減と地球温暖化防止につなげたい。

#### 6. 研究費取得状況

- (1) 受託研究 (日揮 (株)) , 2004年, 2550万円, バイオマスエネルギー高効率転換技術: 高温耐性、耐酸性および耐塩性を有する凝集性酵母の育種及び高効率発酵プロセスの開発/蒸留廃液処理プロセスの確立
- (2) 受託研究 (ヤンマー (株)) , 2004年, 465万円, バイオマスエネルギー高効率転換技術: ABE発酵後のメタン発酵の最適化研究
- (3) 受託研究 (地球環境産業技術研究機構) , 2004年, 525万円, 蛋白系バイオマス資源の高効率液化および有機酸生成技術の開発
- (4) 受託研究 ((株) りゅうせき) , 2004年, 1260万円, 沖縄産糖蜜の高度利用等に関する研究
- (5) 受託研究 (九州沖縄農業研究センター) , 2004年, 900万円, 林産残さ、食品残さ等未利用バイオマスの循環・利用システムの開発
- (6) 受託研究 (九州沖縄農業研究センター) , 2004年, 300万円, 南九州畑作地域におけるゼロエミッション型カスケード利用システムの開発
- (7) 受託研究 ((財) くまもとテクノ産業財団) , 2004年, 150万円, 家畜排せつ物および生ゴミのメタン発酵による利活用
- (8) 受託研究 ((財) 畜産環境整備機構) , 2004年, 100万円, 家畜糞尿搾汁液を主体とする九器物の高速度・硫化水素低減・安定化メタン発酵技術の開発
- (9) 科研費 (重松先生) , 2004年, 240万円, メタン発酵槽内の微生物共生系における細胞間電子伝達系の解明
- (10) 科研費 (滝川先生) , 2004年, 120万円, 有明海干潟環境の回復・維持方策に関する研究(干潟底泥の微生物叢解析に基づく干潟機能改善)
- (11) 共同研究 (瑞鷹 (株)) , 2004年, 540万円, ゼロエミッション焼酎・健康酢製造技術の実証と事業化
- (12) 共同研究 (霧島酒造 (株)) , 2004年, 690万円, 焼酎粕からの機能性飲料・食品の開発
- (13) 共同研究 ((株) バイファ) , 2004年, 215万円, 酵母廃液処理方法の検討
- (14) 共同研究 ((財) 北九州産業学術推進機構) , 2004年, 122万円, 窒素含有有機性廃棄物処理技術の開発
- (15) 日本酒造組合中央会, 2004年, 250万円, 米焼酎粕および米焼酎粕から製造した醸造酢の機能性/調査研究  
2004年, 50万円, 主要国における蒸留酒の製法・品質、酒類制度の調査
- (16) 都市エリア産学官連携促進事業, 2004年, 238万円, バイオマスの効率処理技術の確立
- (17) 奨学寄付金 ((株) エスエルシー) , 2004年, 150万円
- (18) 奨学寄付金 (ヤマキ (株)) , 2004年, 50万円
- (19) 奨学寄附金 (特定非営利活動法人みらい有明・不知火) , 2004年, 232万円, 平成16年度熊本港干潟底質環境調査(微生物分析業務)
- (20) 奨学寄付金 (三菱重工) , 2004年, 50万円
- (21) 大木町 (NEDOバイオマス等未活用エネルギー実証試験事業・同事業調査) , 2004年, 250万円

## 7. 研究発表、特許状況

(1) 原著論文(平成16年度)による発表 計9件

a) 国内誌 (和文)

1) 森村 茂, 河野邦晃, 韓 蓮淑, 関 孝弘, 重松 亨, 木田建次「芋焼酎粕蒸留残渣からの醸造酢の製造および醸造酢凍結乾燥物の食餌投与による抗腫瘍活性評価」生物工学会誌 82 (12) 573-578 (2004).

b) 国際誌 (欧文)

- 1) Yueqin Tang, Toru Shigematsu, Shigeru Morimura and Kenji Kida. "Microbial community analysis of mesophilic anaerobic protein degradation process using bovine serum albumin (BSA)-fed continuous cultivation." J. Biosci. Bioeng. 99 (2) 150-164 (2005).
- 2) Kazunori Takamine, Hisako Hotta, Yoko Degawa, Shigeru Morimura and Kenji Kida. "Effects of dietary fiber prepared from sweet potato pulp on cecal fermentation products and microflora in rats." Journal of Applied Glycoscience 52(1) 1-5 (2005).
- 3) Yimin Zhu, Toru Shigematsu, Liu Kai, Ikbal, Shigeru Morimura, Masatsugu Yamagata and Kenji Kida. "Complete digestion of sewage sludge using wet-oxidation and subsequently simultaneous removal of residual  $\text{NH}_4^+$  and volatile fatty acids by biological treatment." Japanese Journal of Water Treatment Biology 40 (3) 89-96 (2004).
- 4) Toru Shigematsu, Yueqin Tang, Tsutomu Kobayashi, Hiromi Kawaguchi, Shigeru Morimura and Kenji Kida. "Effect of dilution rate on metabolic pathway shift between aceticlastic and non-aceticlastic methanogenesis in chemostat cultivation." Applied and Environmental Microbiology 70 (7) 4048-4052 (2004).
- 5) Arsyad Fahmi, Shigeru Morimura, Hong-Cheng Guo, Toru Shigematsu, Kenji Kida, Yasuko Uemura. "Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sea bream scales." Process Biochemistry 39, 1195-1200 (2004).
- 6) Yueqin Tang, Toru Shigematsu, Ikbal, Shigeru Morimura and Kenji Kida. "The effects of micro-aeration on the phylogenetic diversity of microorganisms in a thermophilic anaerobic municipal solid-waste digester." submitted to Water Research 38(10) 2537-2550 (2004).
- 7) Takahiro Seki, Shigeru Morimura, Tohru Shigematsu, Hiroshi Maeda and Kenji Kida. "Antitumor activity of rice-shochu post-distillation slurry and vinegar produced from the post-distillation slurry via oral administration in a mouse model." BioFactors 22(1-4) 103-105 (2004).
- 8) Hideo Kuwahara, Ayako Kanazawa, Daisuke Wakamatsu, Shigeru Morimura, Kenji Kida, Takaaki Akaike, Hiroshi Maeda. "Antioxidative and antimutagenic activities of 4-vinyl-2,6-dimethoxyphenol (Canolol) isolated from canola oil." Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(14) 4380-4387 (2004).

単行本 (平成16年度) 計1件

- 1) 重松亨, 木田建次「第2編 CO<sub>2</sub>排出削減関連技術 第2章バイオマス利用 6. メタン製造」CO<sub>2</sub>固定化・削減・有効利用の最新技術—地球温暖化対策関連技術— 湯川英明監修 pp. 226-236 シーエムシー出版, 東京(2004, 9月)

特許 (平成16年度出願または公開) 計4件

- 1) 特許出願 2004-82813 「発酵飼料の製造方法」(2004年3月22日出願)  
発明者: 木田建次、森村 茂、重松 亨、イクバル  
出願人: 財団法人くまもとテクノ産業財団
- 2) 特許公開 2004-350505 (特許出願 2003-148472) 「抗癌作用を有する健康食品」(2003年5月27日出願, 2004年12月16日公開)  
発明者: 森村 茂, 重松 亨, 木田建次, 前田 浩  
出願人: 財団法人くまもとテクノ産業財団
- 3) 特許公開 2004-222526 (特願 2003-10847) 「フタル酸エステルを分解する方法、およびフタル酸エステルを含む廃水の処理方法」(2003年1月20日出願, 2004年8月12日公開)  
発明者: 重松 亨、森村 茂、木田建次  
出願人: 財団法人くまもとテクノ産業財団

- 4) 特許公開 2004-215608 (特願 2003-9036) 「フタル酸シクロアルキルエステルを分解する微生物」 (2003 年 1 月 17 日出願, 2004 年 8 月 5 日公開)  
発明者: 重松 亨、森村 茂、木田建次  
出願人: 財団法人くまもとテクノ産業財団

口頭発表 (平成 16 年度) 計 22 件

- 1) 関 孝弘, 森村 茂, 重松 亨, 木田 建次 「米焼酎粕および米焼酎粕から製造した醸造酢が有する抗腫瘍活性」 日本農芸化学会 2005 年度大会講演要旨集, 札幌コンベンションセンター(2005 年 3 月 29 日)
- 2) 稲垣 秀一郎, 森村 茂, 重松 亨, 木田 建次 「黒豆納豆製造工程で副生する大豆煮汁からの醸造酢の製造とその血小板凝集抑制効果」 日本農芸化学会 2005 年度大会講演要旨集, 札幌コンベンションセンター(2005 年 3 月 30 日)
- 3) Toru Shigematsu, Yueqin Tang, Shigeru Morimura and Kenji Kida “Microbial diversity and metabolic pathway analyses of a mesophilic acetate-degrading methanogenic community in a chemostat cultivation” 1st International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicro World 2005), Book of Abstracts, p. 155, March 15-18th, 2005, Badajoz, Spain.
- 4) 劉 凱, 藤村 穰, 重松 亨, 森村 茂, 木田建次 「地域における廃棄物系バイオマスからのメタン発酵によるサーマルリサイクル」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 13 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 5) 水野優子, 重松 亨, 森村 茂, 木田建次 「グリセロールを基質とした中温メタン発酵プロセスの構築と微生物群集解析」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 14 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 6) 西 崇史, 重松 亨, 森村 茂, 木田建次 「超高温メタン発酵プロセスの構築と微生物群集解析」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 14 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 7) 榎藤和修, 稲垣秀一郎, 森村 茂, 重松 亨, 木田建次 「黒大豆煮汁から製造した醸造酢に含まれる抗ラジカル活性物質の解析」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 27 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 8) 信龍亮志, 重松 亨, 森村 茂, 木田建次 「*Delftia tsuruhatensis* 由来のテレフタル酸ジオキシゲナーゼ遺伝子クラスターとプロモーター解析」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 28 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 9) 安 明哲, 小林慎一, 森村 茂, 重松 亨, 木田建次 「ストレス耐性付与のためのトレハロース高蓄積酵母の育種と評価」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 29 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 10) 寺崎万貴, 森田哲也, 重松 亨, 森村 茂, 木田建次 「乳酸発酵によるおからの飼料化」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 33 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 11) 渡邊暁子, 森村 茂, 重松 亨, 工藤 康文, 木田建次 「ブラックベリーからの機能性飲料の製造」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 41 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 12) 森田哲也, 寺崎万貴, 梶 雄次, 重松 亨, 森村 茂, 木田建次 「家畜の小腸や糞からの乳酸菌の単離と性能評価」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 44 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日)
- 13) 湯 岳琴, 重松 亨, 森村 茂, 木田建次 「タンパク質および酪酸を基質とした中温メタン発酵プロセスの構築と微生物叢群集解析」 第 11 回日本生物工学会九州支部大会講演要旨集 p. 45 (大分大学, 2004 年 12 月 11 日) 学生賞 (博士の部) 受賞
- 14) 木田建次, 湯 岳琴, 安 明哲, 重松 亨, 森村 茂 「セルロース系バイオマスからの燃料用エタノールの生産」 平成 16 年度日本生物工学会講演要旨集 p. 31, 名城大学(2004 年 9 月 23 日)
- 15) 杉坂裕美, 重松亨, 森村茂, 木田建次 「DNA マイクロアレイによる酵母の酸性応答遺伝子の探索とそれを用いた耐酸性株の分子育種」 平成 16 年度日本生物工学会講演要旨集 p.138, 名城大学(2004 年 9 月 22 日)
- 16) 湯 岳琴, 重松 亨, 森村 茂, 木田 建次 「タンパク質の嫌気分解に関与する微生物群の連続培養系の構

- 築と微生物叢の解析」平成16年度日本生物工学会講演要旨集 p.202, 名城大学(2004年9月22日)
- 17) 木田 建次, 亀川 由紀子, 林田 尚之, 重松 亨, 森村 茂「アセトン・ブタノール発酵残渣のメタン発酵処理性能に及ぼすNO<sub>3</sub><sup>-</sup>の影響」第7回水環境学会シンポジウム講演集 p.169, 早稲田大学理工学部 (2004年9月14日)
  - 18) 重松 亨, 藤村 穰, 森村 茂, 木田 建次「固定床リアクターを用いた泡盛蒸留廃液の高温メタン発酵に及ぼす有機物濃度の影響と菌叢解析」第7回水環境学会シンポジウム講演集 p.176-177, 早稲田大学理工学部 (2004年9月14日)
  - 19) 韓 蓮淑, 関 孝弘, 森村 茂, 重松 亨, 木田 建次「芋焼酎粕から製造した醸造酢の *in vivo* 抗腫瘍活性評価」平成16年度日本醸造学会大会講演要旨集 p.9, 北トピア(2004年9月9日)
  - 20) 宮川博士, 和佐野成亮, 森村 茂, 重松 亨, 木田建次「ベンチプラントを用いた長期差しもとによる米焼酎製造」平成16年度日本醸造学会大会講演要旨集 p.9, 北トピア(2004年9月9日)
  - 21) 権藤和修, 稲垣秀一郎, 森村 茂, 重松 亨, 木田建次「大豆煮汁から製造した醸造酢に含まれる抗ラジカル活性物質の精製および同定」平成16年度日本醸造学会大会講演要旨集 p.11, 北トピア(2004年9月9日)
  - 22) 重松 亨, 湯 岳琴, 恵良 忍, 小林 努, 森村 茂, 木田建次「タンパク質および有機酸のメタン発酵におけるバクテリアとメタン生成アーキアの共生」日本 Archaea 研究会第17回講演会, 産業技術総合研究所(つくば) (2004年7月9日) 日本 Archaea 研究会第17回講演会要旨集 11-12(2004)

## 平成 16 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：工学部環境システム工学科 川越保徳

### 1. 研究目的・目標

#### (1) H15 年度～21 年度における目的・目標

高度成長期における水環境に関する公害問題は、高度に汚濁したあるいは有害な化学物質に汚染された産業廃水によって引き起こされ、その対策についてはいかに排出源でそれをくい止めるかが最重要課題であった。すなわち排水処理技術を推進、徹底するとともに、排水水質モニタリング技術の向上が図られた。今日では、このような長年に渡る排出源対策が功を奏し、かつての公害問題が再び繰り返されることはないと考えられる。しかしながら一方で、既に汚染された水・土壌環境への対策は今なお不十分な状況にある。特に地下水中の窒素やリンなどの栄養塩類や内分泌攪乱物質に代表される微量化学物質による水環境汚染は、これまでの排出源対策では対処できず、将来に大きな影響を及ぼす恐れもある。これに対して、生物学的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環境修復技術の開発を目的とする。具体的には、我が国だけでなくアジアおよび全世界的に問題となっている窒素をはじめ、ヒ素や微量有害有機物質などの化学物質に汚染された環境水を、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) H16 年度における目的・目標

川越は H15 年に熊本大学に赴任し、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いる。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。

昨年度 (H15 年度) 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行った。生分解性プラスチックとして、ポリヒドロキシブチレート (以下、PHB とする)、ポリ乳酸、酢酸セルロース、ポリブチレンサクシネートの 4 種類を用いて連続実験を実施し、窒素の除去能を比較検討した。その結果、PHB を充填した土壌カラムにおいて、実験開始直後から硝酸の急激な減少がみられ、その後も他の生分解性プラスチックに比べて、安定・良好な窒素除去が認められた。そこで本年度は、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、検討した。

### 2. H16 年度の研究成果

#### (1) PHB 充填土壌カラムにおける硝酸性窒素濃度の経時変化 (Fig. 1)

PHB 充填土壌カラム内での流路に沿った 3 カ所の位置における  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度を調べた結果、実験

を開始後 30 日目には流入水  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度が 15.0 mg/l に対して土壌のみが充填されているカラム上層（流入口）では 13.1mg/l となり、殆ど減少はみられなかった。それに対し、PHB が充填されたカラム中層での  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度は 3.2mg/l と大きく減少（79%）し、さらに下層（流出口）では 3.1mg/l と約 80%の減少が認められた。60 日間経過後には、やはり上層の  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度に変化がみられなかったのに対し、中層で 74%、下層では 98%まで  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度が減少し、窒素の還元除去が認められた。さらに、75 日間経過後には、中層で 91%、下層ではほぼ 100%の硝酸除去が達成され、時間経過に伴ってカラム内脱窒細菌が集積されること、及び PHB 充填土壌カラムにより硝酸性窒素の還元除去が安定継続できることが明らかになった。また、各カラム部位における  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度の違いは、炭素源および電子供与体として PHB を充填したカラム中層から下層にかけて脱窒反応が起こっていることを示している。カラム下層では PHB を充填していないものの、分解された PHB から生じた溶解性有機成分が供給されることで、それを利用可能な脱窒細菌による窒素除去が起ったものと考えられる。

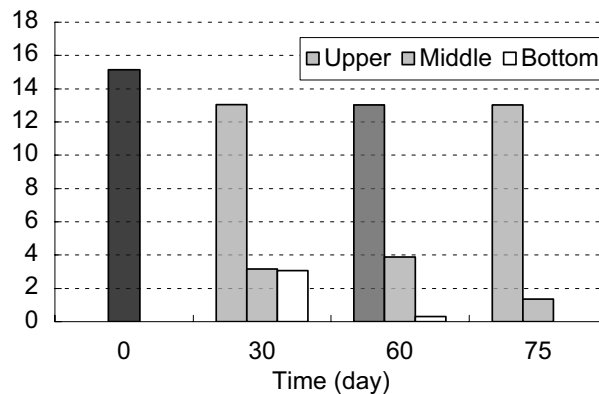


Fig.1 Time courses of  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations in each part of the reactor

## (2) 硝酸性窒素除去と全細菌数および PHB 資化性脱窒細菌数との関係

土壌カラム内での各位置における全細菌数 (Fig. 2) と脱窒菌数の経時変化 (Fig. 3) を調べた。その結果、全細菌数は実験開始直後には  $11.6 \times 10^9 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  であったが、時間経過とともに上層では  $5.2 \times 10^9 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  まで減少した。これは土壌菌の生育に必要な窒素源以外の栄養分が不足していること、及び供試水の流下に伴う washout が原因しているものと考えられた。これに対し、PHB が充填された中層では 30 日経過後には全細菌数は  $9.2 \times 10^8 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  まで減少したが、60 日後には  $7.1 \times 10^9 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  まで回復した。これについては、PHB の充填と  $\text{KNO}_3$  を添加した供試水が供給されたことで、PHB を炭素源とする細菌が増殖したものと考えられる。また、下層でも中層と同様に 30 日後には全細菌数が  $13.9 \times 10^8 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  まで一旦減少したが、75 日後には  $3.4 \times 10^9 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  に増加した。この値は、村澤らが報告している高級脂肪酸を水素供与体として用いた水路型水質浄化リアクター中の全細菌数  $10^8 \sim 10^9 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  とほぼ一致するものである。

一方、脱窒菌数についてはカラム上層では全試験期間中を通じて殆ど検出されなかったが、PHB

が充填された中層では60日経過後に  $19.3 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  まで増加した。また、下層においても脱窒菌は増加し、75日経過後では  $3.2 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  にまで集積されていることが分かった。この値は農地の土壌表層での脱窒菌数として報告されている  $10^6 \text{ cells} \cdot \text{wet-g}^{-1}$  と同じレベルである。さらにこの結果は、生分解性プラスチックを炭素源として生育する脱窒細菌が土壌カラム内で安定して増殖し、保持されたことを示している。また、Fig. 1 と Fig. 3 から明らかな様に、中層及び下層における  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度の減少は、PHB 資化性脱窒細菌数の増加を反映しており、本 PHB 充填土壌カラムリアクタにおける窒素除去の有用性が示された。

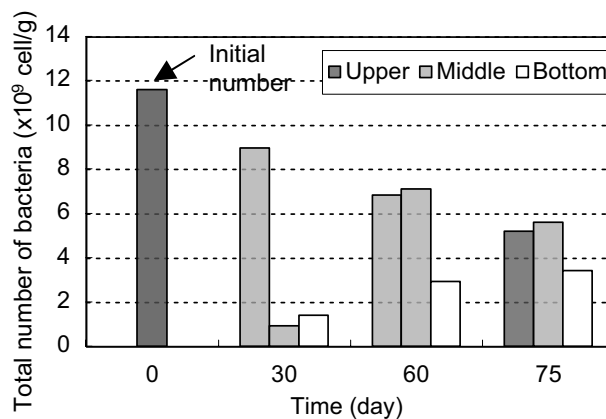


Fig.2 Time courses of total bacteria in each part of the reactor

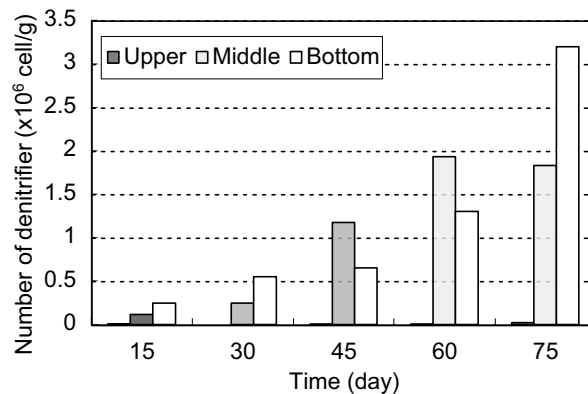


Fig.3 Time courses of the number of denitrifiers in each part of the reactor

### (3) カラム内土壌細菌の細菌叢と硝酸性窒素除去との関係

PHB が充填されたカラム中部の土壌を採取して DNA を抽出し、真性細菌用のプライマーを用いて 16S rDNA を PCR にて増幅した後、DGGE と DNA 配列比較による細菌叢解析を行った (Fig. 4, Table 1)。その結果、DGGE でみられた DNA バンドの数は約 8 本程度と少なく、土壌細菌の淘汰・集積が推定された (Fig. 4)。また、硝酸性窒素の還元に関与していると考えられる既知細菌に高い相同性を有する 2 本の DNA バンドが認められた。この内、特に PHB 分解能が報告されている *Ralstonia*

*picketti*に高い相同性（100% in ?? bps）を示したDNAを有する細菌が、本カラムにおける脱窒能に深く関わっている可能性が高いものと推定された。

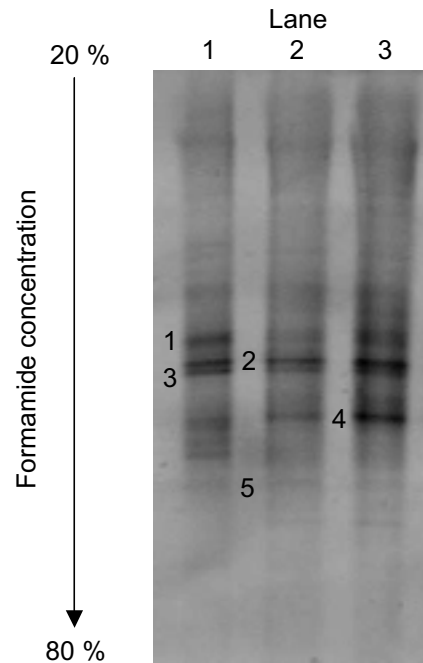


Fig. 4 DGGE profile of PCR products (Lane 1, DNA sample 1; Lane 2, DNA sample 2; Lane 3, DNA sample 3)

Table 1 List of bacteria closely related to the DNA sequence of bands on DGGE

Band No.	Closest relative (accession number)	% Similarity
1	<i>Ralstonia pickettii</i> (AY741342)	100
2	<i>Ideonella</i> sp. B508-1(AB049105)	93.8
3	<i>Dechloromonas</i> sp. SIUL (AF170356)	93.3
4	<i>Aquabacterium</i> sp. Aqua2 (AF089858)	99.3
5	<i>Nitrospira</i> sp. (Y14637)	98.6

### 3. 成果の達成度

H16年度の研究目標であった、生分解性プラスチック PHB 充填カラムリアクターによる硝酸性窒素処理に関する、リアクター内の窒素の挙動と関与細菌に関する基礎的知見を得ることができ、今年度の成果は達成されたと考えている。本成果については論文にまとめ、現在学会誌に投稿中である。



#### 4. H17年度の目的・目標

H16年度の研究を進める中で、上記リアクター内の土壌から、PHB 資化性の脱窒細菌が集積された。さらに同細菌の単離について検討し、現在その純度を確認している。H17年度は本単離細菌について、生物学的な基礎研究を進めるとともに、同細を活用し、PHB を炭素源および電子供与体として用いる高速で低コストの硝酸性窒素除去技術の構築を目標に、研究を推進する。

#### 5. H16, H17年度の研究費取得状況

##### (1) H16年度取得状況

- 1) 財団法人 前田記念工学振興財団, 2004年, 100万円, 水草バイオマスからの水素発酵と関与微生物群解析に関する研究

##### (2) H17年度申請状況

- 1) 学術振興会基盤研究C, 2005-2007年, 490万円, 太陽光集光システムと付着固定化光合成細菌を活用する新規水素生産技術の開発
- 2) JFE2004年度・技術研究助成, 2005年, 200万円, 生分解性プラスチックを炭素源とした土壌カラムリアクターによる地下水中の窒素除去に関わる微生物群叢解析ならびに関与細菌の分離
- 3) 西田鉄工研究基金, 2005年-2006年 134万円, 生分解性プラスチック資化性脱窒細菌の集積・分離と硝酸性窒素除去への利用に関する研究
- 4) (財)住友財団環境研究助成, 2005年, 200万円, 生分解性プラスチック充填土壌カラムを活用した水中窒素除去リアクターからの関与細菌の分離と細菌群叢解析
- 5) (財)国土技術研究センター研究開発助成, 190万円, 有機酸を基質として利用可能な光合成細菌を用いる太陽光活用型水素生産プロセスの開発

#### 6. H16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) 金虎, 守田真基子, 川越保徳, 丸山繁, 浦上貞治, 古川憲治, 脱窒の水素供与体としての各種生分解性プラスチックの利用性の比較, 日本水処理生物学会誌, 40 (2), 45-52 (2004)

###### ② 国際誌 (欧文)

- 1) Yasunori Kawagoshi, Sachiko Nakamura, Nishio Takayuki, Isao Fukunaga, Isolation of Aryl-Phosphate Ester-Degrading Bacterium from Leachate of a Sea-Based Waste Disposal Site, Journal of Bioscience and Bioengineering, 98 (6), 464-469 (2004)

##### (2) 原著論文以外による発表

###### ① 学会発表

(国際学会)

- 1) Robert Nerenberg, Yasunori Kawagoshi, and Bruce Rittmann: Microbial Ecology of a Perchlorate-Reducing Biofilm Reactor with Nitrate as a Primary Electron Acceptor, *10th International Symposium on Microbial Ecology ISME 10*. (Cancun, Mexico. August, 2004)
- 2) Robert Nerenberg, Yasunori Kawagoshi, Kumamoto University, Bruce E. Rittmann, Kinetics and Microbial Ecology of Perchlorate-Reducing Bacteria: Implications for Remediation, The annual international conference on soils, sediments and water, <http://www.umasssoils.com/abstracts2004/Tuesday/envbiotechnology.htm> (October 18-21, 2004, University of Massachusetts Amherst, Massachusetts, USA)

(国内学会)

- 1) 金丸直樹, 中尾雅治, 劉毅慧, 川越保徳, 古川憲治: 金属膜分離活性汚泥法による高度排水処理, 第41回日本水処理生物学会, つくば市つくば国際会議場(2004年11月10日~12日), 日本水処理生物学会誌, 別巻, 24, p102
- 2) 金虎, 守田真基子, 川越保徳, 古川憲治: 脱窒の水素供与体としての各種生分解性プラスチックの利用性の比較, 第41回日本水処理生物学会, つくば市つくば国際会議場(2004年11月10日~12日), 日本水処理生物学会誌, 別巻, 24, p83
- 3) 日野なおえ, 辺野喜麻衣子, 川越保徳, 古川憲治, 藤田由季子, 杉村誠司: 嫌気性水素発酵の種源と改良方法に関する比較検討, 第41回日本水処理生物学会, つくば市つくば国際会議場(2004年11月10日~12日), 日本水処理生物学会誌, 別巻, 24, p44 (2004)
- 4) 川越保徳, 藤本綾, 金虎, 古川憲治, 生分解性プラスチックポリヒドロキシ酪酸(PHB)を充填した土壌カラムリアクターによる硝酸性窒素の除去とそれに関与する細菌叢の解析, 平成16年度日本水環境学会九州支部研究発表会, 宮崎市ウェルシティ宮崎(2005年2月18日), 平成16年度日本水環境学会九州支部研究発表会講演要旨集, p3-4
- 5) 日野なおえ, 藤田由季子, 辺野喜麻衣子, 藤本綾, 川越保徳, 古川憲治, 嫌気性水素発酵における種源の探索と連続水素生成条件, 平成16年度日本水環境学会九州支部研究発表会, 宮崎市ウェルシティ宮崎(2005年2月18日), 平成16年度日本水環境学会九州支部研究発表会講演要旨集, p5-6
- 6) 高橋弘和, 岡崎優子, 藤本綾, 川越保徳, 古川憲治, 有機酸を利用可能な光合成水素生成細菌の集積と分離, 平成16年度日本水環境学会九州支部研究発表会, 宮崎市ウェルシティ宮崎(2005年2月18日), 平成16年度日本水環境学会九州支部研究発表会講演要旨集, p7-8
- 7) 辺野喜麻衣子, 川越保徳, 古川憲治, セルロースを資化する嫌気性水素発酵細菌の探索と集積に関する研究, 平成16年度土木学会西部支部研究発表会, 福岡市九州大学箱崎理系地区(2005年3月5日), p961-962
- 8) 南直哉, 福田淳, 川越保徳, Rouse D. Joseph, 古川憲治, PVAゲルビーズを活用するパラニトロフェノールの処理に関する基礎的研究, 平成16年度土木学会西部支部研究発表会, 福岡市九州大学箱崎理系地区(2005年3月5日), p969-970
- 9) 岡崎優子, 高橋弘和, 川越保徳, 古川憲治, 有機酸を炭素源として水素を生産する光合成細菌の集積・馴養に関する基礎研究, 平成16年度土木学会西部支部研究発表会, 福岡市九州大学箱崎理系地区(2005年3月5日), p977-978

- 10) 日野なおえ, 藤田由季子, 川越保徳, 古川憲治, 嫌気性水素発酵における種種源と連続水素生成条件に関する基礎検討, 第39回日本水環境学会年会, 千葉市千葉大学西千葉キャンパス (2005年3月17日~19日), 第39回日本水環境学会年会講演集, p273
- 11) 高橋弘和, 岡崎優子, 川越保徳, 古川憲治, 干潟より採取した光合成水素生産菌の集積と分離, 第39回日本水環境学会年会, 千葉市千葉大学西千葉キャンパス (2005年3月17日~19日), 第39回日本水環境学会年会講演集, p274

③ 特許状況

特に無し

## 平成 16 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：理学部理学科・嶋田 純

### 1. 研究目的・目標

#### (1) H15 年度～21 年度における目的・目標

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

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

#### (2) H16 年度における目的・目標

##### 降水中の安定同位体比変動に基づく変成岩源流域に於ける降雨一流出過程の解明

水循環における循環プロセスの研究が最も充実しているのが、山地の森林源流域における降雨一流出プロセスの研究である。この研究では降った降水が、どのような経路を通り地下に浸透し、またどのようなメカニズムで河川へと流出するのかを現地で詳細に観測することによって解明することをその狙いとしている。対象流域の気象・植生・土壌・地質などの地域的に異なる要因が、降雨流出過程においてどのような役割を果たしているのかを正確に把握することは、山地の地形形成や地形変化要因の解明、斜面崩壊の発生プロセス、さらに山地における地下水涵養・流動の把握につながり、それらは山地防災および水資源的な観点からも重要な研究として位置づけられる。

水分子そのものと行動を共にするいわゆる水の環境同位体を用いて土壌水・地下水の滞留時間や地下水流動機構を評価するいわゆる同位体水文学的手法は、この降雨一流出プロセス研究においても広く利用されており、降水・土壌水・地下水の同位体比の違いを利用して降雨一流出プロセスの詳細な実態解明が試みられている。

九州のような年間降雨量が多く、長時間強い降雨が持続するような水文特性を持つ地域での研究例は少なく、また源流域森林内の立木密度が高いため樹幹流の効果が相当大きいことが想定されるが、それらを配慮した降雨一流出プロセス研究は行われていない。そこで H16 年度の研究では、土壌層の発達が薄く滞留効果が相対的に小さい変成岩性の森林源流域において、林内雨、樹幹流を含めた降雨一流出プロセスについて、安定同位体比の時間変動特性を利用してその実態解明を試みた。

### 2. H16 年度の研究成果

森林総合研究所九州支所が管理している熊本県鹿北試験流域の 3 号流域において 2003 年 11 月

から2004年12月の期間について降雨一流出に関して、安定同位体比特性を基本とした関連水文観測調査を行なった。隣接する2流域における水文特性の比較結果によれば、両流域とも降雨における同位体比の季節変動を打ち消す程度の滞留時間をもっており、主に夏期の降水によって涵養されているが、3号流域の方が2号流域と比較して高い保水機能を持っており、2号流域よりも3号流域において $\text{SiO}_2$ はハイドログラフの成分分離を行なう上で有益なトレーサーとなることが判明した。そこで、地下水流動機構の相対的に単純な流域である3号流域を対象に林内雨と樹幹流を入力量としたタンクモデルによる流量と同位体比濃度変化の解析を試みた。

まず、1つの降雨イベントを対象にタンクモデル法による流出に寄与する樹幹流の定量評価を行う際の手順を以下のように確立した。

- 1) 林内雨と樹幹流の同位体比の加重平均値とレイリー式から同位体の濃縮率を求め、遮断蒸発散量を求める。
- 2) inputとしての降水量(C:林内雨と樹幹流の合計値)を林外雨から遮断蒸発量を差引いた値(A)と林内雨(B)の範囲内で適宜設定し、あらかじめ化学トレーサー( $\text{SiO}_2$ )を用いて求めておいた降雨流出時の地下水流出の割合と比流量変化の両方を満たすタンク形状を試行錯誤的に求める。
- 3) 実際の河川水における同位体比変動と、上記2)のモデルから得られた同位体変動を比較しモデルの妥当性を検証する。
- 4) 両者を比較し整合しない場合には上記2)のC値を適宜変更して、再度2)、3)の操作を繰り返す。整合性に問題がなければ、設定したinput量(C値)から林内雨量を差引き、これを樹幹流(mm)とし、実測された樹幹流量(ml)を1000倍した値をこの樹幹流(mm)で除すことにより樹幹流の浸透寄与面積( $\text{m}^2$ )を算出する。

次いで、この手順を用いて12月3日～6日のイベントにおける樹幹流の定量評価を行った。その結果、このイベントに寄与した樹幹流量は6.86mm程度であり、この樹幹流に対する寄与面積( $33.92\text{m}^2$ )は、樹冠投影面積( $21.4\text{m}^2$ )の1.59倍に相当することがわかった。

### 3. 成果の達成度

これまで一つの降雨イベントに関しては、降水中の安定同位体比は土地利用(地表植生)による違いは存在しないと考えられていたが、本研究のような森林植生域では樹幹流の影響により、降水中の安定同位体比が他の土地利用地域と異なる可能性が示唆された。

この傾向は、本研究と同時期に実施された菊池台地上のクヌギ林における樹幹流に伴う地下水涵養を土壌の比抵抗変化から把握する研究の成果とも整合する結果である。これまでその存在が軽視されてきた樹幹流の定量評価研究として十分な価値があり、早い機会に国内外の関連学会で成果の公表をしてゆくことを考えている。

### 4. H17年度の目的・目標

これまで一つの降雨イベントに関しては、降水中の安定同位体比は土地利用(地表植生)による違いは存在しないと考えられていたが、本研究のような森林植生域では樹幹流の影響により、降水中の安定同位体比が他の土地利用地域と異なる可能性が出てきた。今後、地下水流動の入力トレーサーとして安定同位体を用いる場合に、涵養域の植生条件を加味する必要が出てくる可能

性がある。樹幹流の発生は、降雨の形態と樹種によって大きく異なる。今後、色々なタイプの降雨形態時の樹幹流について、流出に対する寄与率をここで提案された方法で検証することにより、源流域における樹幹流の涵養効果の定量化を図ってゆきたい。

## 5. H16年度の研究費取得状況

### ・科学研究費

科研費基盤(A) (1) 平成14-17年度 山体基盤岩地下水流動の実態解明とその水資源的評価。 嶋田 純 (代表)、田中 正、長谷義隆、谷口真人、登坂博行、徳永朋祥、辻村真貴、恩田裕一、小野寺真一、宮岡邦任、後藤忠則、松田博貴、46100千円

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

### ・その他の研究費

都城市受託研究費 2004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 2004年度共同研究、分担 500千円、『都市の地下環境に残る人間活動の影響』

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

資源・素材学会、深部地質環境調査解析技術体系化委員会 受託研究 『地下水の地球化学的調査に関する研究』、分担 2879千円

### ・委任経理金 3件 (1550千円)

## 6. H16年度の研究発表、特許状況

### (1) 原著論文による発表

#### ・ 国内誌 (和文)

- (1) 後藤忠徳・笠谷貴史・木下正高・三ヶ田均・嶋田純・佐藤壮 (2004) : 地下水流動に伴う海底自然電位異常検出の試み, JAMSTEC深海研究, No. 24, 13-24, 2004.
- (2) 山中 勤・嶋田 純・辻村真貴 (2004) : 非定常塩素収支による浸透フラックス評価とその検証. 筑波大学陸域環境研究センター報告. (投稿中)
- (3) 高野出恵、大場和彦、嶋田 純、丸山篤志 (2004) : 宇土半島の小流域における微気象特性. 九州の農業気象. 第II集. 13号、29-32.
- (4) 大角京子、嶋田 純、大場和彦 (2004) : 落葉樹からの樹幹流浸透が土壌水分に与える影響. 九州の農業気象. 第II集. 13号、47-48.

#### ・ 国際誌 (欧文)

- (1) Zhou, Q. Y., Matsui, H. & Shimada, J. (2004): Characterization of the unsaturated zone around a cavity in fractured rocks using electrical resistivity tomography. Jour. of Hydraulic Res. 42, Extra issue, 25-31.
- (2) Zhou, Q. Y. and J. Shimada, Temporal stability of the spatial distribution pattern of soil water, Acta Pedologica Sinica, 40(5), 683-690, 2003 (in Chinese with English abstract).

- (3) Yamanaka, T., Shimada, J., Hamada, Y., Tanaka, T., Yang, Y., Zhang, W., Hu, C., (2004): Hydrogen and oxygen isotopes in precipitation in the northern part of North China Plain: Climatology and inter-storm variability. *Hydrological Processes*, 18, 2211-2222.
- (4) J. Chen, C. Tang, Y. Sakura, A. Kondoh, J. Yu, J. Shimada, T. Tanaka (2004): Spatial geo-chemical and isotopic characteristics associated with groundwater flow in the North China Plain, *Hydrological Processes*, 18, 3133-3146.

## (2) 原著論文以外による発表

- (1) 嶋田 純 (2004) : 地質スケールに応じた地下水流動問題とその応用地質学的アプローチ. 日本応用地質学会平成16年度シンポジウム予稿集. 48-50.
- (2) 嶋田 純(2004) : 熊本地域の地下水—70万都市を支える地下水との共生—. 日本水文科学会誌No. 34, 81-90.
- (3) 嶋田 純(2004) : 同位体を利用した古水文情報の抽出. 日本水文科学会平成14年度シンポジウム講演要旨集. 62-69.
- (4) 嶋田 純、後藤純治(2004) : 環境同位体に基づく扇状地の地下水流動特性. 黒部市地下水流量等調査業務報告書. 黒部市. 149-177.
- (5) 井川玲欧、嶋田 純、佐伯憲一、谷口真人(2004) : 地下水中の環境同位体を用いた静岡平野における地下水流動系の解明. 平成 13-15 年度科学研究費補助金研究成果報告書. 240-259.

## (3) 学会発表

- (1) 富山湾周辺河川水の水文特性と湾への物質負荷量の予察. 地球惑星科学関連学会 2004 年合同大会 2004 年 5 月, (井川 玲欧、嶋田 純、徳永 朋祥、他と共著)
- (2) ヘルレン川流域の地下水涵養機構. 地球惑星科学関連学会 2004 年合同大会 2004 年 5 月, (安部豊、辻村真貴、嶋田 純、他と共著)
- (3) トリチウムを用いたモンゴルケルレン川流域における地下水流動評価. 地球惑星科学関連学会 2004 年合同大会 2004 年 5 月, (樋口覚、嶋田 純、他と共著)
- (4) モンゴル・ケルレン川河谷低地における TEM 法による地下水賦存特性の把握. 地球惑星科学関連学会 2004 年合同大会 2004 年 5 月, (嶋田 純、辻村真貴、他と共著)
- (5) 低透水性堆積岩盤における同位体水文学的研究. 日本地下水学会 2004 年春季講演会講演予稿集 17. (寺本雅子、嶋田 純、國丸貴紀と共著)
- (6) 海底地下水湧出量直接測定のスケーラップへの試み. 日本地下水学会 2004 年春季講演会講演予稿集 17. (石飛智稔、谷口真人、嶋田 純)
- (7) Groundwater flow system study in the Quaternary pyroclastic flow aquifer including coastal groundwater seepage-out. Joint AOGS 1<sup>st</sup> annual meeting, 5-9 July 2004, Singapore., Abstract vol.1., 761. (J. SHIMADA, D. INOUE, S. SATOH, T. GOTOH, Y. HASE, M. TSUJIMURA, M. TANIGUCHI, K. MIYAOKA)
- (8) 長崎県池島炭鉱における地下水の同位体特性. 応用地質学会平成 16 年度研究発表会予稿集.

2004年10月（小野雅弘、田中和広、嶋田 純、大山隆弘、飯島幸夫）

- (9) 八代海海底湧水地域での VLF-MT と SP 観測. 物理探査学会講演要旨. 2004 年 9 月（笠谷・後藤・佐藤・嶋田）
- (10) 火山岩からなる山地源流域の湧水に於ける降雨流出機構. 辻村、嶋田他, 日本地下水学会 2004 年秋季講演会講演要旨. 2-3.
- (11) 水循環系に於ける安定同位体の動態追跡—熊本・宇土半島におけるケーススタディー. 橋爪、登坂、嶋田他, 日本地下水学会 2004 年秋季講演会講演要旨. 4-5.
- (12) 八代海沿岸域での地下水挙動に伴う自然電位分布の時間変化. 後藤、笠谷、佐藤、嶋田, 日本地下水学会 2004 年秋季講演会講演要旨. 6-7.
- (13) 環境同位体・地下水ポテンシャルに基づく火成岩流域の広域地下水流動. 井上、嶋田、長谷, 日本地下水学会 2004 年秋季講演会講演要旨. 8-11.
- (14) 自然電位法 (SP 法)を用いた広域地下水流動把握に関する研究. 佐藤、嶋田、後藤, 日本地下水学会 2004 年秋季講演会講演要旨. 12-15.
- (15) 大潮—小潮の潮位変化による海底地下水湧出量の変化. 石飛、谷口、嶋田, 日本地下水学会 2004 年秋季講演会講演要旨. 16-19
- (16) 酸素・水素安定同位体比からみた秋吉台鍾乳洞に於ける地下水涵養特性. ベル、田中、嶋田、辻村, 日本地下水学会 2004 年秋季講演会講演要旨. 48-49.
- (17) 地下水流動プロセス研究に関する最近の動向と今後の課題 (2) 地下水の滞留時間推定法. 辻村、嶋田、小野寺, 日本地下水学会 2004 年秋季講演会講演要旨. 212-213
- (18) Groundwater flow system in Kherlen river basin revealed by environmental tritium. HIGUCHI S., SHIMADA J., TSUJIMURA M., ABE Y. and DAVAA G. RAISE International Workshop. 2004.11. Tsukuba Univ.
- (19) Budget analysis on groundwater and river water interaction in Kherlen River Basin, eastern Mongolia, Tsujimura M. Davaa G, Kamemura H., Abe Y., Higuchi S., Tanaka T. and Shimada J. RAISE International Workshop. 2004.11. Tsukuba Univ.
- (20) Effects of rainfall and land use on nitrate transport of coastal groundwater in western Japan. : Onodera, S, Saito, M., Takei, T., Hayashi, M. and Shimada, J. Proc. 33rd Con. Int. Ass. Hydrogeologist, 1-4, 2004.

#### (4) 特許状況 : なし

#### 7. その他H16年度における特筆すべき活動

H16年度における活動として追加すべき項目は、2004年11月1日～3日にかけて日本地下水学会熊本大会実行委員会（主催）、全国さく井協会九州支部（共催）、熊本大学・熊本県・熊本市（後援）による『日本地下水学会 2004年度秋季大会、公開シンポジウム』の開催を、実行委員長として実施したことがあげられる。特に11月2日午後開催した、公開シンポジウム『水質・水量から見た健全なる地下水循環を求めて—熊本地域からの発信—』では、全国からの地下水研究者・技術者に加えて、地元（熊本及び九州）の自治体、地質コンサルタント技術者、一般民間人、マスコミ関係者等、200名近い参加者があり、熊本地域の質の高い地下水対策の実例と計画を全国に向けて発信することで成功裏に閉幕することが出来た。

また、一昨年設立した西日本水文学関連研究室連合（熊大、山口大、広島大、奈良教育大、



三重大、東大、筑波大)による Inter-University Hydrology and Hydrogeology Seminar 2005 の第3回大会(総勢約50名)を2005年2月28日に山口大学理学部で開催し、熊大からは7件の発表(参加10名)を行った。

8. H16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17年度入学予定学生数(内訳)

H16年度:1名

H17年度:進学者1名、留学生(予定10月)1名

9. H17年度外部資金申請状況

- ・ 核燃料サイクル開発機構・平成17-19年度先行基礎工学研究、『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』(分担)、9000千円(内定)
- ・ ニッセイ財団H16年度一般研究、『針葉樹林および広葉樹林の地下水涵養機能の評価に関する研究』(分担)、3500千円
- ・ 平成17年度特定領域研究(計画研究)代表 地下水帯水層を利用した古水文情報の抽出、102000千円
- ・ 平成17年度 萌芽研究 (代表) 日本に於ける地下水中のフロンを用いた滞留期間推定法の確立、5000千円
- ・ 平成17年度 基盤研究(A)(一般) 分担 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、38600千円
- ・ 平成17年度 萌芽研究 分担 間隙水中の塩素安定同位体比を用いた超長期地質環境安定性評価技術の開発、4950千円
- ・ 平成17年度 基盤研究(A)(一般) 分担 地球温暖化に伴う森林植生の変化が陸域水循環に及ぼす影響に関する研究、49929千円
- ・ 平成17年度 基盤研究(A)(海外) 分担 中国内陸性気候帯に於ける地下水資源の評価に関する研究、49941千円
- ・ 平成17年度 基盤研究(B)(一般) 分担 地質体の亀裂分布のマルチスケール解析と超長期透水現象予測への応用、14530千円
- ・ 平成17年度基盤研究(B)(一般) 分担 「沿岸地下水による窒素流出過程の解明—地下水と海水の混合域いわゆる浄化域を考慮して—」、19210千円
- ・ 平成17-22年度総合地球環境学研究所プロジェクト研究「都市の地下環境に残る人間活動の影響」、分担(コアメンバー)、448890千円(内定)

## 平成15年度研究成果報告（単年度研究成果）

研究課題名：「閉鎖性海域における環境変動の要因分析と回復・維持方策」

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

本研究は、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) H16年度における目的・目標

- ・海域における物理環境・生態環境のデータ解析に基づき、環境変動の要因分析を行う。これらを踏まえ、環境再生と持続性に関する要因を抽出し、他のテーマとの連携課題とする。
- ・有明海浮泥の浮遊・沈降特性を実験的に調べるとともに、数値解析のための浮泥流動モデルの開発を図る。また、有明・八代海域に最も適した生態系モデルを構築する。強い潮流の発生する有明海域特性を考慮にいれ、潮流解析、干潟と直上水との間の物質交換、干潟の浄化モデルを組み込んだ数値解析手法の進展を図る。さらに、高波や河川からの大出水等の異常気象、地球温暖化に伴う海象変化等に対する海域環境変化の予測システムの完成を図るとともに、海域環境回復のための方策を探ることを目的とした数値シミュレーション解析を実施する。
- ・海水中のプランクトン粒子径、クロフィル濃度、AGP濃度、濁度、海水中の浮泥の粒子径の等の測定を行い、貧酸素域等での水質環境と物理環境特性を明らかにするとともに、窒素、リンの収支の検討をする。また、生物叢解析に基づく分子生物学的手法を用いて、干潟底泥サンプル中の細菌および古細菌の群集解析などを行い、底泥中の微生物叢と底泥質をデータベース化する。特に生態系に悪影響を及ぼすと考えられる硫酸塩還元細菌については、干潟の質と微生物叢および代謝機能を比較することで、微生物と干潟の質の因果

関係を明らかにする。得られた知見に基づいて干潟機能の改善策を考案する。

- ・海域環境の再生に関する現地実証実験・調査及び再生方策について、共同研究の実施を行う。具体的には、海域環境調査船「海輝」による海域環境調査と「耕耘」による干潟改善効果についての国土交通省との共同研究の実施。「なぎさ線（押え盛砂工法）」創生による“防災と環境との調和した”新しい海岸保全事業開発についての農林水産省との共同研究の実施。熊本県土木部およびNPO法人との共同研究による「人工干潟（野鳥の池）創生」による環境変動のモニタリング調査、および熊本県環境政策課との共同による沿岸域環境実態調査及び海域環境再生策のマスタープラン作成に取り組む。

## 2. H16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、30数年に及ぶ各省庁・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、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）」や熊本県の「有明海・八代海干潟等沿岸海域再生検討委員会委員長」などを通じて、“海域環境のマスタープラン作り”に向けて技術指導等を行っている。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有明海・八代海再生に精力的に取り組んでいる。また、防災問題に関しては、「熊本県高潮対策検討会（委員長）」で想定最大高潮を基準とした新たな“減災”対策の基本指針を策定した。我国初の海岸災害の減災対策の理念を提言し、熊本県および国の高潮減災対策の基本方針として策定した。これを受けて「熊本県海岸保全基本計画検討会（委員長）」では防護・環境・利用の調和を目指した基本計画を策定した。さらに17年度の新規事業として熊本県では「高潮・洪水浸水氾濫ハザードマップ策定（仮称）」が予算化され、この実施に際しての学術的指導・提言を依頼されている所である。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、地域社会のための公共事業のあり方についても指導・提言を行っている。

日本学術振興会の科学研究費基盤研究(A)(2)やB(1)を継続受給中で、その他の外部資金も多数獲得し共同研究者と共に積極的に研究展開した。研究成果は、海域環境の特性と再生方策等に関するものや高潮対策に関する新たな指針に関するものとして論文や招待講演を中心に発表している。また、環境対策に関する科学的アプローチとシステム作りのあり方について“環境倫理”としての概念を著書として出版し、大いに反響を呼んでいる。

また、地域においては、文部科学省の熊本大学地域貢献特別支援事業として「環・阿蘇/有明・八代海の環境保全・修復とブルーグリーンツーリズム活性化のための知的・人的ネットワークの構築」の代表として事業を推進し、“地域社会の防災と環境の調和”、“生き生きして地域社会づくり”に多大の実績をあげている。また、「有明・八代海沿岸域環境研究会（H9～）：主宰」、「NPO：みらい有明・不知火（H13.6～）：理事長」、「熊本県建設コンサルタンツ協会：技術顧問」、その他、環境・建設・調査関連企業の数社の技術指導実施、また「干潟フェスタ」実行委員長など環境教育も実施中で、地域の環境・防災産業の活性化とともに、研究・教育のリーダーとして奮闘中である。

### 3. 成果の達成度

有明・八代海の環境と防災にかかわる総合研究を推進するに当たって、過去のデータの収集と分析、現地での観測調査によるデータ収集、数値シミュレーション手法の開発と適用、干潟環境回復のための現地実証実験、および海域環境の回復・維持方策についての行政への提言等、積極的に推進・展開をおこなっている。

### 4. 17年度の目的・目標

16年度に引き続き、3つのサブテーマを研究の基本軸として、積極的な研究展開を行う。

### 5. 16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 (代表) . 基盤研究 (A) (2) 一般. 平成 14~17 年度 40,800 (千円).  
「有明海干潟環境の回復・維持方策に関する研究」
- 2) 滝川清 (分担) . 基盤研究 (B) (1) 一般. 平成 16 年度 700 (千円).  
「津波・高潮・洪水氾濫の複合ハザードマップ」
- 3) 滝川清 (代表) . 文部科学省地域貢献推進特別事業 (熊本大学・熊本県・市町村・NPO 未来有明・不知火). 「環・阿蘇/有明・八代海の環境保全・修復とブルー・グリーンツーリズム活性化のためのネットワーク構築」 (16 年度 9,160 千円).

#### ③ 奨学寄付金

8 件 11,597,200 円 (沿岸域環境科学教育研究センター・教授 ; 滝川 清)  
(内訳)

- 1) 平成 16 年度 1,000 (千円) 株式会社テトラ  
「植栽による干潟環境回復策の検討」
- 2) 平成 16 年度 1,000 (千円) 株式会社ニュージェック  
「干潟の生態系モデルの開発とその現地適用性に関する研究」
- 3) 平成 16 年度 1,000 (千円) 有限会社日本水産土木コンサルタンツ  
「有明海東部沿岸におけるシルテーション特性に関する基礎調査」
- 4) 平成 16 年度 950 (千円) 特定非営利活動法人未来有明・不知火  
「玉名横島海岸保全事業」
- 5) 平成 16 年度 917.2 (千円) 特定非営利活動法人未来有明・不知火  
「熊本港干潟底質環境調査」
- 6) 平成 16 年度 840 (千円) 特定非営利活動法人未来有明・不知火  
「有明海底質環境調査」
- 7) 平成 16 年度 1,000 (千円) 株同仁化学研究所
- 8) 平成 16 年度 4,800 (千円) 特定非営利活動法人未来有明・不知火

#### ③ 共同研究

- 1) 滝川清. (アジアプランニング株) 平成 8~継続中. 420 (千円)/年. 「有明海域における

自然環境の評価と保全に関する研究」.

- 2) 滝川清. (開成工業株式会社). 平成 8〜継続中. 420 (千円)/年. 「陸水流入に伴う有明海域の物質流動とその制御」.

④平成 17 年度申請状況

- 1) 文部科学省科学技術振興調整費「重要課題解決型研究等の推進—環境保全・再生に関する研究開発・技術実証実験」: 代表: 滝川清,  
1 次審査通過 (1 億円/年×3 年間)
- 2) 滝川清 (代表). 基盤研究 (A) (2) 一般. 平成 17〜20 年度 49,574 (千円).  
「底質環境変動の要因分析に基づく有明海海域環境の回復・維持技術とその効果」: 最終年度前年度特別申請

## 6. H16 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) 滝川清, 田中健治, 外村隆臣, 森英次, 渡邊枢, 青山千春: “八代海の環境変動の要因分析に関する研究”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 51 巻, pp. 916-920 (2004. 11)
- 2) 田中健路, 滝川清, 成松明: “有明海干潟上における大気・海面・干潟面間のエネルギーフラックスに関する観測”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 51 巻, pp. 1131-1135 (2004. 11)
- 3) 滝川清, 増田龍哉, 田中健路, 弥富裕二: “創生された人工干潟における環境変動のメカニズムに関する研究”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 51 巻, pp. 1171-1175 (2004. 11)
- 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)

#### ②国際誌 (欧文) (今年度)

- 1) Harada Hiroyuki, Takikawa Kiyoshi and Hayashi Yasuhiro: ” The Effect of Salinity on Water Purification Ability of Ariake Sediment ”, 10<sup>th</sup> APCCHE, Oct. 2004.

#### ③これまでの論文 (代表的論文 (10 以内))

- (1) 滝川清, 田中健治, 外村隆臣, 西岡律恵, 青山千春: “有明海の過去 25 年間における海域環境の変動特性”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 50 巻, pp. 1001-1005 (2003. 11)
- (2) 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)
- (3) 滝川清, 田中健路, 外村隆臣, 吉村祥子, 古市正彦: “有明海の中中部海域における環境変動の要因分析”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 49 巻, pp. 1066-1070 (2002. 10)
- (4) S. Hayashi, T. Ohmoto, K. Takikawa ” Fundamental Study on Direct Numerical Simulation using a High-order Accuracy Upwind Difference Scheme ” Journal of Hydroscience and

Hydraulic Engineering, JSCE Vol. 19, No. 2, pp. 65-74 (2001. 11)

- (5) 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. 42-48
- (6) 滝川清, 田淵幹修: “台風 9918 号による不知火海の高潮と波浪特性”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 47 卷(1), 291-295 (2000. 11)
- (7) 滝川清, 古川憲治, 鈴木敦巳, 大本照憲, 山田文彦: “有明海の白川・緑川河口域における干潟環境特性とその評価に関する研究”, 海岸工学論文集, 土木学会, 第 46 卷(2), pp. 1121-1125, 1999.
- (8) F. Yamada, K. Takikawa : “Numerical Models with Reynolds Equation Based Energy Dissipation for Plunging Breaker on a Uniform Slope”, Coastal Engineering Journal, Vol. 41, No. 3, pp. 247-267, 1999.
- (9) K. Takikawa, F. Yamada, K. Matumoto “Internal Characteristics and Numerical Analysis of Plunging Breaker on a Slope”, An International Journal for Coastal, Harbour and Offshore Engineers, 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) “生命と環境”(熊本大学生命倫理研究会論集 5), 高橋隆雄編, 滝川清 (分担執筆, 25 p.) 九州大学出版会, 福岡, 2004
- 2) “月間海洋”(海洋出版社), 総特集八代海—環境と生物の動態—, 「八代海の物理環境特性」, 滝川清, 田中健路, 2004
- 3) “くちぞこが観た八代海の風景—環境変化をとらえるための表層堆積物データベース—”, 秋元和實・滝川 清・島崎英行, 他, 出版: NPO みらい有明・不知火, 熊本大学沿岸域環境科学教育研究センター. 2005. 3
- 4) “八代海底質分布図 (B0 版 1 葉)”, 秋元和實・滝川 清・島崎英行, 他, 出版: NPO みらい有明・不知火, 熊本大学沿岸域環境科学教育研究センター. 2005. 3

### ② 学協会誌

- 1) 滝川清: “環境技術者を志す君達へ”, 第 5 回土木ゼミ, 熊本大学土木環境システム蘇遥会学生会, 熊本市, , 70 p (2004, 7, 2)
- 2) 滝川清 “地元建設コンサルタントの進むべき方向と産学の連携について” 有限責任中間法人: 熊本県建設コンサルタント協会トップセミナー基調講演, 熊本市, 51p, (2004. 8. 2)
- 3) 滝川清 “有明海・八代海の再生について” 平成 16 年度熊本県漁協理事研修会、熊本県漁業共同組合連合会, 熊本市, 30p, (2004. 8. 3)
- 4) 滝川清: “流れの科学と地域環境づくり”, 平成 16 年度第 1 学期放送大学面接授業 (集中型): 「流れの科学と地域環境づくり」集中授業 15 時間, 熊本市, 144p, (2004. 8. 14~8. 15)

- 5) 滝川清 “総合討論-微小生物の研究に期待するもの-指名討論”，人為的な沿岸環境擾乱の指標としての生物-過去の環境変動に対する古生物の応答に関する研究からの提言-, 日本学術会議古生物学研究連絡委員会・日本学術会議地質学研究連絡委員会・日本学術会議第四紀学研究連絡委員会, 東京都, 15p, (2004. 10. 12)
- 6) 滝川清: 有明海の環境特性と改善の試み “, 文部科学省 地域貢献特別支援事業「環・阿蘇/有明・八代海の環境保全・修復とブルー・グリーンツーリズム活性化のためのネットワーク構築」, 熊本大学公開講座「有明海・八代海を科学する」, 熊本市, 217p, (2004. 10. 28)
- 7) 滝川清: “熊本の環境と減災を考える”, (社)熊本県測量設計・建設コンサルタンツ協会, 第2回業務報告会基調講演会, 熊本市, pp7-18, (2004. 11. 19)
- 8) 滝川清 “八代海の海域環境について” 第2回みらい有明・不知火シンポジウム長崎・佐賀・熊本3大学合同、長崎大学, 2 p, (2004, 12, 11)
- 9) 滝川清 “有明・八代海の修復と保全” 底質環境シンポジウムー港湾域の持続的発展を目指した技術開発-, 東京都× p, (2004, 12, 21)

### (3) 学会発表等 (今年度)

#### ① 招待講演

- 1) 滝川清: “地元建設コンサルタントの進むべき方向と産学の連携について” 有限責任中間法人:熊本県建設コンサルタンツ協会トップセミナー基調講演, 熊本テルサ, 15名(2004. 8. 2) 51p
- 2) 滝川清: “有明海・八代海の再生について”, 平成16年度熊本県漁協理事研修会、熊本県漁業共同組合連合会, ホテルニューオータニ、150名(2004. 8. 3) 30p
- 3) 滝川清: “有明・八代海の再生に向けて” 総合討論-微小生物の研究に期待するもの-指名討論人為的な沿岸環境擾乱の指標としての生物-過去の環境変動に対する古生物の応答に関する研究からの提言-, 日本学術会議古生物学研究連絡委員会・日本学術会議地質学研究連絡委員会・日本学術会議第四紀学研究連絡委員会, 東京都, (日本学術会議大会議室), (2004. 10. 12) 15p
- 4) 滝川清: “有明・八代海の環境特性と再生維持方策について~不知火高潮災害と有明海異変~” 文部科学省 地域貢献特別支援事業「環・阿蘇/有明・八代海の環境保全・修復とブルー・グリーンツーリズム活性化のためのネットワーク構築」, 熊本大学公開講座「有明海・八代海を科学する」, 熊本市, 177p, (2004. 10. 28)
- 5) 滝川清: “熊本の環境と減災を考える” 熊本県測量設計・建設コンサルタンツ協会, 第2回業務報告会 基調講演, 熊本市, (2004. 11. 19) 論文集 7P~18P
- 6) 滝川清: “八代海の海域環境特性について”, 長崎・佐賀・熊本3大学合同, 第2回みらい有明・不知火シンポジウム, 長崎, p(2004, 12, 11)
- 7) 滝川清 “有明・八代海の修復と保全” 底質環境シンポジウムー港湾域の持続的発展を目指した技術開発-, 東京都, (2004, 12, 21)
- 8) 滝川清: “企業家のための: 社会変遷と教育の方向性” (社) 熊本県測量業協会・建設コンサルタンツ協会技術講演会, 熊本テルサ, 60名, (2005, 2, 8)

②一般講演

- 1) 渡辺 枢, 滝川 清, 青山千春, 田中健路, : “有明・八代海における $\sigma$ 座標系3次元流動解析”, 平成16年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, II-13, (2005. 3)
- 2) 大久保 貴仁, 滝川清, 増田龍哉, 田中健路, 森本剣太郎, : “有明海の干潟環境改善策に関する研究”, 平成16年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, II-16, (2005. 3)
- 3) 梅田 光, 滝川清, 田中健路, 森本剣太郎, : “海岸環境のアメニテイ評価に関する研究”, 平成16年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, II-28, (2005. 3)
- 4) 三迫 陽介, 滝川清, 増田龍哉, 田中健路, 森本剣太郎, : “創生された人工干潟における地形及び底質変動に関する研究”, 平成16年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集, VII-89, (2005. 3)
- 5) 成松明, 田中健路, 滝川清, : “有明海干潟上の乱流フラックス観測” 日本気象学会九州支部, pp13-15, (2005. 3. 5)

・特許

- 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



## 平成 16 年度研究成果報告

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

所属・氏名： 工学部環境システム工学科・小池克明

### 1. 研究目的・目標

#### (1) H15 年度～21 年度における目的・目標

水源から有明海までの流域圏における水理構造の全体像を解明するとともに、水域環境を広域的にモニタリングし、データの数理解析によって環境の時間的・空間的変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) H16 年度の目的・目標

- ・環境因子として有明海・八代海の海面温度を対象とし、その分布を衛星画像から高精度で推定できる手法を開発する。
- ・干潟堆積物の地質や物性を把握するのに有効な分光反射率・放射率のグラウンド・トゥールースデータを取得する。
- ・衛星画像のように間接的に広域情報が得られるソフトデータ、および複数の測点での詳細な定期観測によって得られるハードデータとを組み合わせ、水温の 3 次元分布を適切にモデリングできる数理手法を開発する。
- ・データの取得範囲を超えた広い領域での空間分布を推定するために、地球統計学を用いたマルチスケール空間分布推定法を開発する。
- ・2 種類の地磁気-地電流法を組み合わせ、帯水層や水理基盤に関する熊本平野の 3 次元的な水理地質構造を明らかにする。

## 2. H16 年度の研究成果

### 2.1. リモートセンシング関係

#### I. 気象データと LANDSAT TM 熱赤外データの組み合わせによる海面温度推定精度の向上法

光学センサ画像から水質環境の変化を把握するための第一段階として、データ蓄積の多い LANDSAT TM バンド(熱赤外) 6 データからの海面温度推定法を検討し、有明海に適用した。解析では 10 シーンのデータを用いた。各画素でのデータ (0~255 の整数) を DN 値と呼ぶ。得られた主な成果は以下のとおりである。

- (1) 海面温度推定では、厚い大気層の影響を軽減することが不可欠である。これには、次式の変量回帰モデルが有効であることがわかった。

$$T_s^* - T_a = c_1 \cdot x + c_2 \cdot y + c_3 \cdot z + c_4 \cdot V^* + c_5$$

(1)

ここで  $T_s^*$  : 推定海面温度(°C),  $T_a$  : 観測日の気温,  $x$  : 緯度,  $y$  : 経度,  $z$  : 水深,  $V^*$  : 補正 DN 値, および  $c_1 \sim c_5$  は最小二乗法により求められる係数である。高層湿度に起因した熱放射エネルギー分を差し引いた DN 値を  $V^*$  として用いた。全シーンに対しての海面温度の推定値と実測値との相関係数は、平均で 0.79 であった。これは上記のパラメータを考慮しない場合の平均値 0.48 から大幅に向上している。

- (2) 22 測点での観測データと衛星画像データから多変量回帰モデルを作成し、これをシーン全体に拡大した結果の一例を図 1 に示す。これらは 1997 年 11 月 2 日, 1999 年 2 月 9 日, 2000 年 8 月 6 日のデータを用いた海面温度推定分布である。冬から春先, および秋では有明海内の方が温度が高く, 外海に向かって温度が上昇するが, 気温が高い時期ではその逆の分布傾向になり, 湾奥の温度が最も高くなるのが明瞭に表現できた。また, 推定結果から温度分布の異方性が把握できた。主軸の方向は, 冬と春先は北東-南西, 初夏は南北, 夏は北東-南西, および秋は東西と変化し, これはグローバルな海流と気象に起因すると考えられる。
- (3) 大気効果を検討するために熱放射エネルギーの伝達をモデル化した結果, センサ入力の全エネルギーに占める海面からのエネルギーの割合は, 海面温度に比べて大気の代表的な気温が小さい, 大気に比べて海面の放射率が大きい, およびエネルギー伝達関数が大きい, という 3 つの条件で大きくなるのが明らかになった。これらは, 海面温度の実測値と推定値との相関係数が高いシーンの気象条件に対応すると考えられる。また, その割合は海面温度と気温との差の増加とともに直線的に増加すること, および海面の放射率が相対的に小さいほどエネルギー伝達関数に強く依存することが見出された。
- (4) 有明海全体での海面温度の平均値は, 対象日に近い過去の降水量, 気温と調和的に変動しており, 特に降水量との対応が良いことが明らかになった。降水量との相関は, 気温が高いほど降水量が多い, という一般的な傾向に起因していると考えられる。また, 1997 年 11 月はエルニーニョ現象の最盛期にあり, 海面温度と気温との関係は他のデータと大きく異なったにもかかわらず, 多変量回帰モデルによれば大気効果を軽減し, 海面温度分布の特徴を明確にできることが確かめられた。

## II. 干潟堆積物の反射スペクトルの特徴抽出

可視域から短波長赤外域 (0.4~2.5  $\mu\text{m}$ ) における分光反射率から干潟堆積物の地質や物性を把握することを目的とし, 熊本港付近の複数の地点から採取された干潟サンプルの分光放射率を測定した。その結果, 粒径が細くなるほど電磁波の表面散乱が大きくなって反射率が増加すること, および水酸基や水分子の振動に起因する波長帯での反射率低下が顕著になることなどの特徴が得られた。この結果から衛星画像のバンド (観測波長帯) 間演算によって, 干潟堆積物の粗度

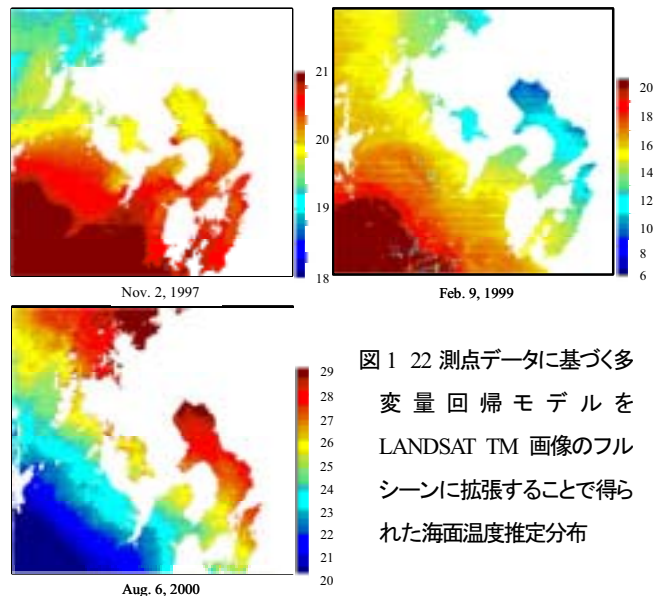


図 1 22 測点データに基づく多変量回帰モデルを LANDSAT TM 画像のフルシーンに拡張することで得られた海面温度推定分布

の時間的・空間的变化が推定できる可能性が見出せた。

### III. 断裂系と関連したリニアメントの抽出精度の向上

地下水の広域流動推定において地質弱線部の抽出は重要であり、衛星画像を用いたリニアメント解析が広く行われている。解析からはリニアメントの分布パターンが得られるのみでなく、地質学的な意義付けが行えることが望まれる。そのためにはリニアメントの高い抽出精度に加えて、リニアメントがどの程度断裂を反映するのか、および用いるデータの空間分解能によってリニアメントの特徴がどのように変化するのか、の評価が不可欠である。衛星画像には太陽照射効果や気象状況などによって地形が不明瞭となる部分が存在するので、抽出精度を向上させる手法について検討し、これを上記の評価に応用した。

リニアメント解析では、主に白亜紀後期の花崗岩からなる福島県東部の阿武隈山地を対象に選び、LANDSAT TM と ETM+ データ、SPOT-2、および 10 m メッシュ DEM を用いた。対象範囲は東西・南北に 50 km 四方である。リニアメントの抽出には、線素の検出と連結のためのしきい値処理に太陽照射方向を考慮する線素追跡アルゴリズム(STA)の改良版(小池ほか, 1999)を用いた。DEM 斜面の法線方位と電磁波の照射方位との内積に基づく陰影図もリニアメント解析では広く用いられているが、衛星画像と同様に照射方位の影響が強く現れるのが問題である。これを改善するために、30°間隔で 6 つの照射方位を設定し、各方位での DEM 反射強度を加算するという多方位陰影図を作成した。解析範囲の一部に対し、東→西に照射した場合の 10 m DEM 陰影図と多方位陰影図とを図 2 で比較する。前者には陰の領域が多く、東西方向に近い谷地形も不鮮明であり、これらがリニアメントの抽出精度を低下させる。一方、多方位陰影図には方位に無関係に地形の詳細が現れている。同図にデータを間引くことで作成した 30 m と 50 m の DEM 陰影図を示すが、分解能によって細かい谷地形が消える特徴が確かめられる。さらに、10 m の空間分解能をもつ SPOT パンクロマチック画像の一部と 10 m DEM 多方位陰影図を比較したところ、多方位陰影図の方が地形が鮮明といえ、ETM+ パンクロマチック画像についても同様であった。多方位陰影図を用いたリニアメントの解析結果、DEM 分解能が低下するほどリニアメントは規模の大きな断裂に関連することがわかった。

次に、Koike *et al.* (1998) の手法によって、グループ化したリニアメントから推定断裂面の走向・傾斜を算定し、これと現地亀裂調査データの方位の頻度分布に注目した。推定断裂面は露頭を中心とした約 1 km の範囲における 10 m DEM 陰影図リニアメントに基づく。両者の卓越方位は調和している。このような対応を示す露頭は全体の 50% 程度を占めた。また、実測データと 30 m DEM 陰影図リニアメントに基づく推定方位の比較も行った。この際、距離が近い露頭のデータを纏めるとともに、連続性が 3 m 以上で幅が 0.1 cm 以上という亀裂のみを比較に用いた。その理由は、連続性の良い亀裂に限定した方がリニアメントに基づく推定断裂面の方位との対応が良くなったからである。さらに、全露頭データを纏め、これと 50 m DEM 陰影図リニアメントに基づく推定断裂面とを比較した。リニアメントの抽出範囲は全露頭を含む 25 km × 25 km であり、長さ 5 m 以上で幅 3 cm 以上という良い連続性が推定できる亀裂データのみを比較に用いた。卓越走向と傾斜方位の傾向はほぼ対応していることが明らかになった。以上の比較検討からも、DEM 分解能によって得られる断裂系の情報が異なることが推定できる。

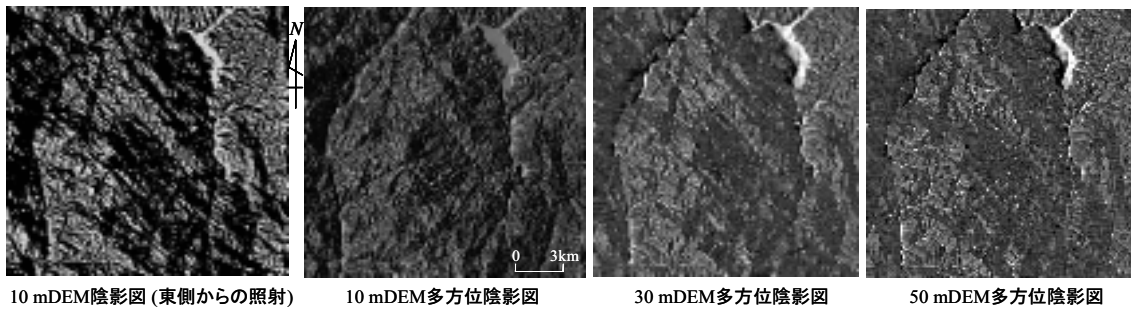


図2 一方向からの照射に基づくDEM陰影図と多方位照射陰影図との比較, およびDEM分解能による陰影図の変化

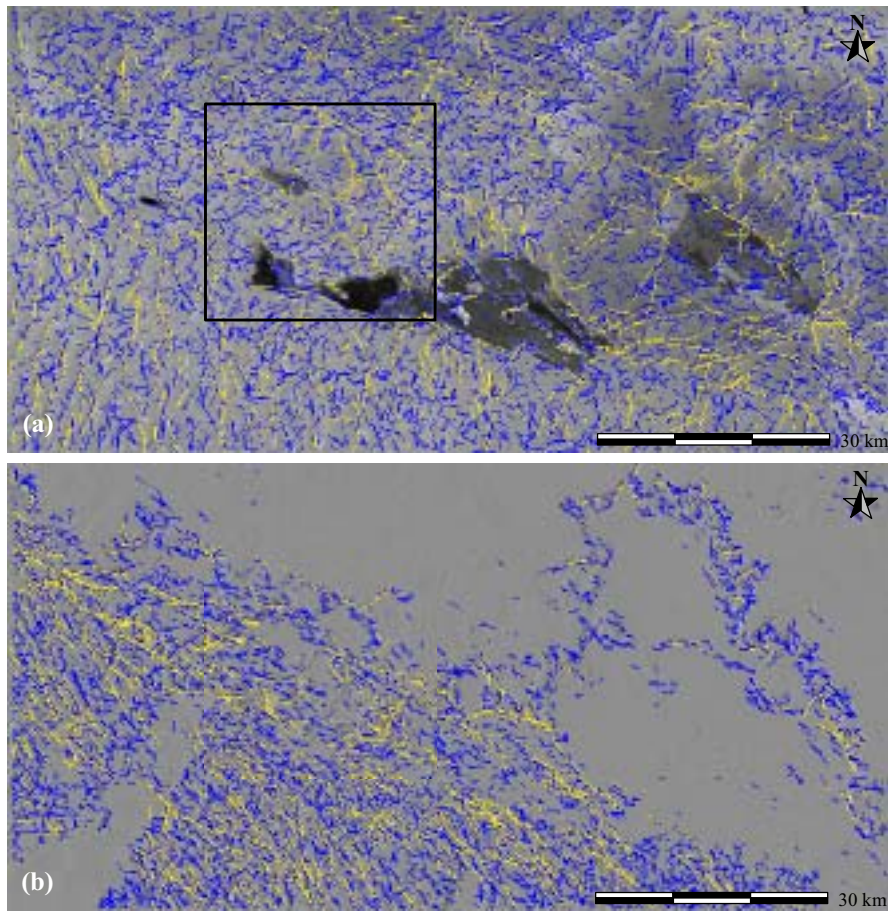


図3 STAによって(a)LANDSAT TM 画像, および(b)多方位DEM陰影図から抽出されたエジプトシワ地区のリニアメント(青色)とグループ化されたリニアメント(黄色)

また, 本研究で提案した手法は, 日本の地形のみでなく, 地形の凹凸が小さい乾燥域にも適用できることが明らかになった。水資源確保のために地下水系の解明が重要な課題となっているエジプト北部のシワ地区への適

用例を図3に示す。広域的に連続し、地下水のパスとなり得る WNW-ESE と NE-SW 方向の断裂系が抽出できている。

## 2.2. 数理モデル

### I. 閉鎖性海域環境の経年変化抽出への時空間地球統計学の適用

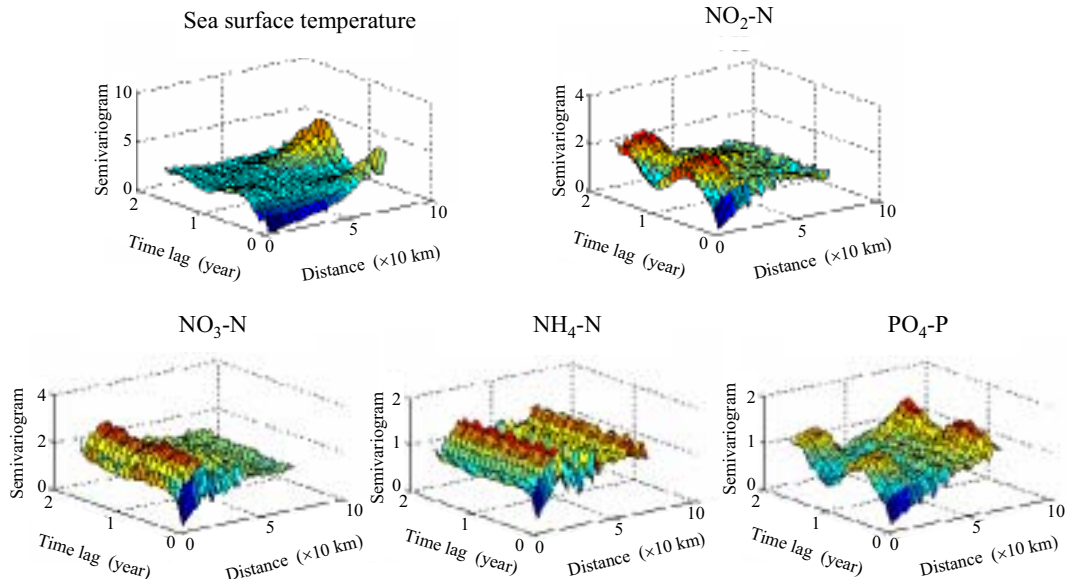


図4 季節変化成分除去後の海面温度データ、および対数に変換した栄養塩濃度データの時空間での実験セミバリオグラム

有明海の43浅海定線調査地点において、1975～2000年の間に月1回の割合で得られた海面温度と4つの栄養塩濃度のデータを解析対象とした。データに地球統計学を適用することで環境に関連する因子の空間分布と経年変化に関する特徴の抽出を試みた。主な成果を以下に要約する。

- (1) 各データの時空間の相関構造を明らかにするために、実験セミバリオグラムを求めた。その結果を図4に表す。これらのモデリング法として、平滑化3次スプラインを用いた修正多項式モデルを提案した。このモデルを季節変化成分除去後の海面温度データ、および対数に変換した栄養塩濃度データに適用した結果、海面温度には時間と空間の両方向に明確な相関性が存在するのに対し、栄養塩濃度においては時間方向の相関性は微小であり、両者の相関構造の相違が明らかになった。また、空間方向の相関範囲はデータの種類によって異なり、海面温度が60 km程度と最も長く、栄養塩濃度は20～50 kmの範囲で得られた。
- (2) 修正多項式によるセミバリオグラムモデルとオーディナリ・クリギング (OK) を用い、推定精度のクロス確認を行ったところ、全測点での実測値と推定値との相関係数は、海面温度で0.99という高い値が得られた。一方、栄養塩濃度に対する相関性は低いので、空間方向のみのセミバリオグラムモデルに変更したところ、相関係数は0.77～0.87に増加し、妥当に推定できるようになった。よって、時空間領域での相関構造の明瞭さに応じてセミバリオグラムを選択することが重要である。
- (3) 海面温度の推定分布 (図5) から、冬季には湾奥の温度が最も低く、それから湾口に向かって漸次温度が上昇するが、夏季の分布パターンはそれと逆になり、湾口の方が低温である、などの季節変化の特徴が明らかに

できた。海苔の色落ちが生じた2000年の海面温度は相対的に低く、例年とは異なった傾向を示した。次に栄養塩の推定濃度分布を図6に示すが、いずれも1年を通して湾奥で濃度が高いこと、夏季での濃度分布パターンは年によって大きく変わり得ること、および2000年12月での濃度が有明海全体で低いことが共通した特徴である。また、 $\text{NO}_2\text{-N}$ の濃度は1998年以降、9月と12月のいずれも低下の傾向にあるのに対し、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は6月の濃度

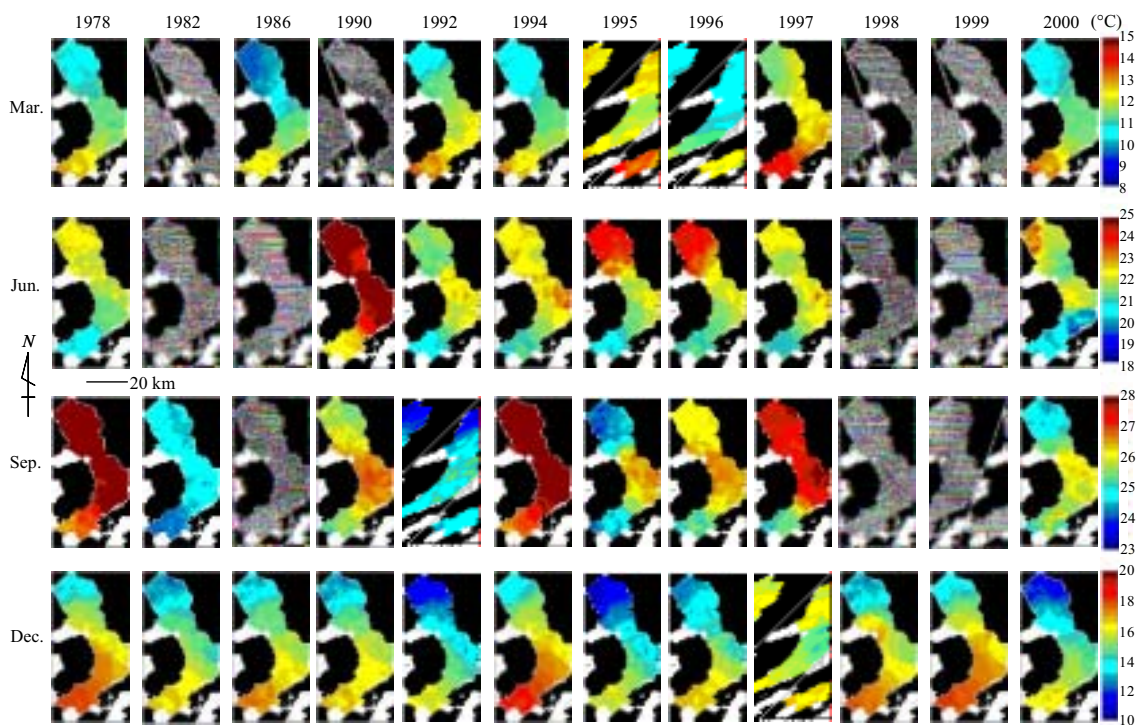


図5 時空間セミバリオグラムモデルとオーディナリ・クリギングによる海面温度分布の推定結果

が増加していること、および  $\text{NH}_4\text{-N}$  と  $\text{PO}_4\text{-P}$  は夏季と冬季での濃度分布に大差はないこと、などの成分ごとの特徴も明らかにできた。

- (4) 有明海湾中央の平均海面温度と熊本市の気温との相関を求めたところ、これらは平たい楕円のようなパターンを描き、4月から8月にかけてはほぼ等しいのに対して、9月から3月までは海面温度の方が高く、その差は概ね12月で最大となることがわかった。
- (5) 海域の硝化能力を評価するのに重要な指標である  $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$  と  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$  の分布から、いずれにも湾奥と湾中央の境に東北東-西南西方向の明瞭な不連続線が存在し、湾奥の方が一様に6月では小さく、12月では大きい、という特徴が抽出できた。1997年以降、12月の湾奥での比が減少する傾向にある。湾奥での冬季の硝化能力低下が、有明海における環境悪化の重要な因子であると推定できる。

## II. ハードデータとソフトデータの組み合わせ—衛星画像を用いた海域水温分布推定への適用—

対象とする地質物性との関連強さや空間分解能に関して、地球科学データはハードとソフトの2種類に大別できる。坑井で深度方向に細かい間隔で得られる地質や岩石物性のデータなどが、ハードデータの代表である。しかし、コストの面から量と分布に限られる場合が多い。一方、ソフトデータとは、地震探査のように広い範囲で

大量の情報が得られるが、空間分解能が低く、空隙率などの物性を間接的に反映するデータを意味する。本研究では、海域環境の時空間的変化抽出の一つとして海面温度に注目し、ソフトデータとして衛星画像、ハードデータとして複数の測点での観測データを用いた。海面や水深方向の温度分布の推定精度を向上させるという目的のため、これらのデータの組み合わせ法を提案した。

前述のように衛星画像を用いて海面温度が推定できたが、相関係数が示すように各測点での推

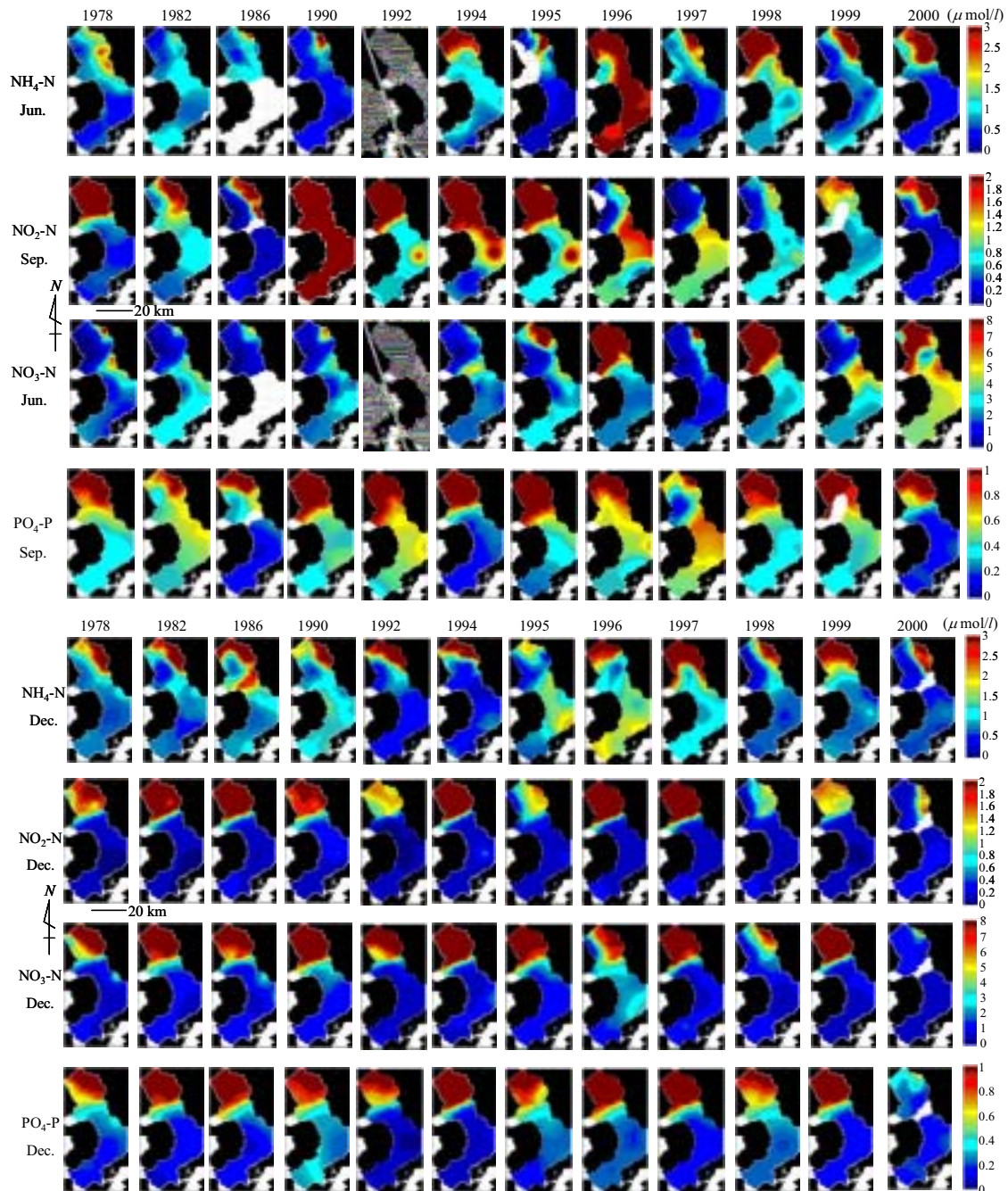


図6 時空間セミパリオグラムモデルとオーディナリ・クリギングによる栄養塩濃度分布の推定結果

定値は観測値と一致しない。衛星画像の取得日と海面温度測定日のずれ，推定モデルの精度不足がその原因である。これを補正するために，地球統計学的手法を適用した。いま，空間座標  $\mathbf{u}$  での真のランダム関数値を  $Z(\mathbf{u})$ ，そのオーディナリ・クリギング (OK) による推定値を  $Z^*(\mathbf{u})$ ，および測点  $\mathbf{u}_i$  での観測値を  $Z(\mathbf{u}_i)$  と表す。  $Z(\mathbf{u})$  は，

$$Z(\mathbf{u}) = Z^*(\mathbf{u}) + [Z(\mathbf{u}) - Z^*(\mathbf{u})] \quad (2)$$

と分解できる。ここで  $[Z(\mathbf{u}) - Z^*(\mathbf{u})]$  は未知のクリギング誤差を表す。一方，衛星画像を用いた推定値を  $S(\mathbf{u})$ ，  $\mathbf{u}_i$  での推定値を  $S(\mathbf{u}_i)$ ，これを用いた  $\mathbf{u}$  での OK 値を  $S^*(\mathbf{u})$  と表す。測点間隔に比べて画像の画素の大きさは小さいので，  $S(\mathbf{u})$  は一種のシミュレーション結果と考えられる。  $S(\mathbf{u})$  も式(2)

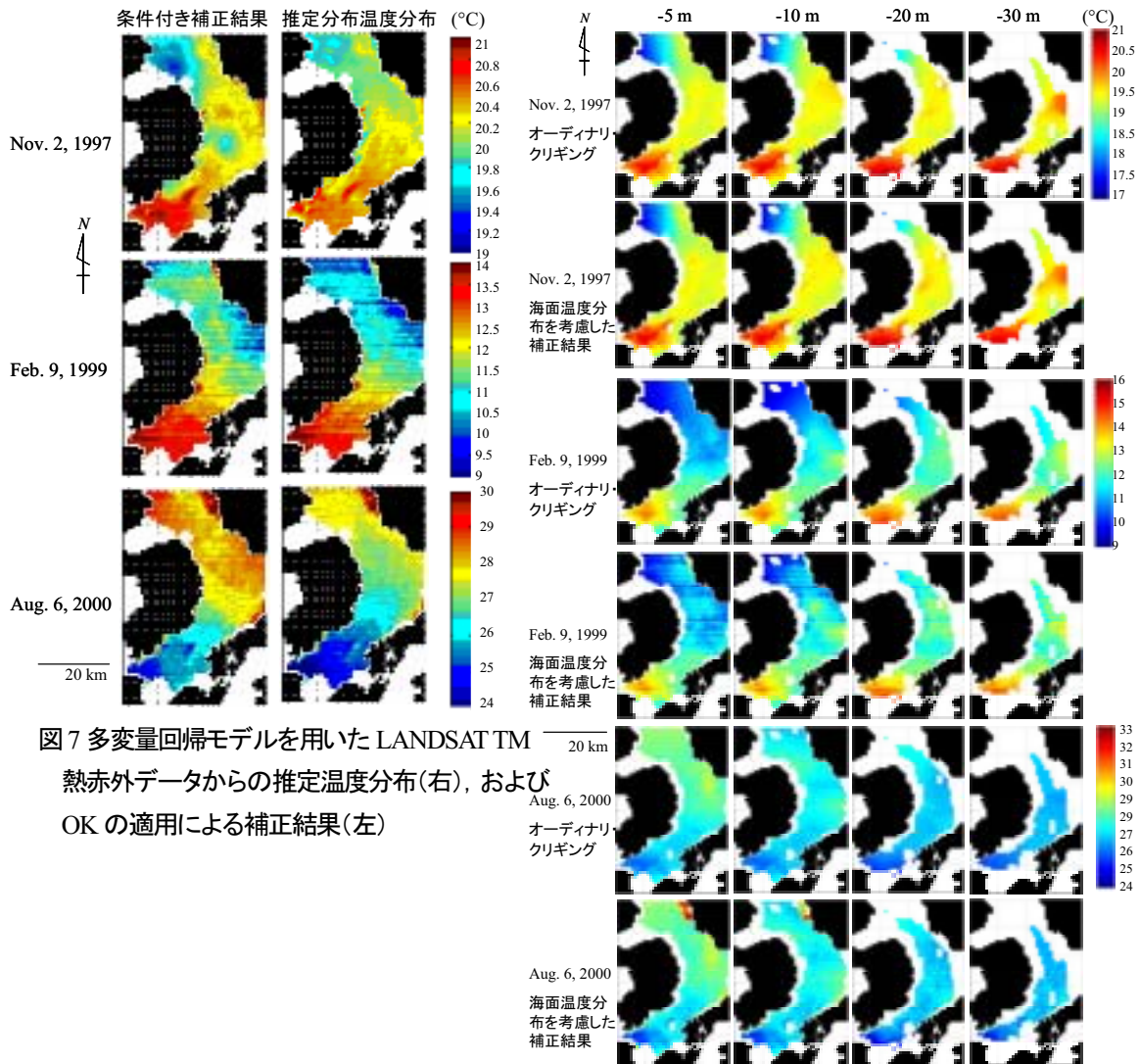


図7 多変量回帰モデルを用いた LANDSAT TM 熱赤外データからの推定温度分布(右)，および OK の適用による補正結果(左)



図8 各画像取得日で水深5, 10, 20, 30 mでの観測データとOKを用いた推定温度分布(上段), およびこれに図7に示す補正された海面温度分布の空間的変動を取り入れた結果(下段)

と同様に分解できるが,  $[S(\mathbf{u})-S^*(\mathbf{u})]$ が既知であることが異なる。これで式(2)の $[Z(\mathbf{u})-Z^*(\mathbf{u})]$ を置き換えれば,

$$X(\mathbf{u}) = Z^*(\mathbf{u}) + [S(\mathbf{u}) - S^*(\mathbf{u})] \quad (3)$$

という条件付き推定値が得られるようになる。クリギングの原理により測点では $Z^*(\mathbf{u}_i) = Z(\mathbf{u}_i)$ ,  $S^*(\mathbf{u}_i) = S(\mathbf{u}_i)$ となり,  $X(\mathbf{u}_i)$ は $Z(\mathbf{u}_i)$ と等しいからである。

以上の手法による1997年11月2日, 1999年2月9日, 2000年8月6日(これらをシーンA, B, Cと称する)の補正結果を図7に示す。衛星画像に基づく推定結果と比べて, シーンAでは湾口付近の高温域が明瞭になり, 湾中央に周囲に比べて温度が低い領域が現れたこと, シーンBでは湾奥の温度が増加したこと, およびシーンCでは湾中央の温度が増加し, 湾奥西部にも高温域が現れたこと, がわかる。光学センサのノイズのような横方向のパターンが見られるが, 温度分布の特徴はより明瞭になっている。

さらに, 温度の3次元分布の時間的な変化の抽出を目的とし, 補正された海面温度 $X(\mathbf{u})$ を異なった水深(5, 10, 20, 30 m)での温度分布推定に適用する。観測データからセミバリオグラムを作成したところ, 垂直方向には相関構造が現れなかったので水平方向のみのセミバリオグラムを用い, 同一水深での観測データ $D(\mathbf{u})$ をOKにより補間した。その結果を $D^*(\mathbf{u})$ と表す。シーンA, B, Cの撮影日に対応する観測データを用いての $D^*(\mathbf{u})$ の分布を, 水深ごとに図8に示す。白色は対象水深が海底面よりも下にあり, 計算の範囲外であることを意味する。水深が異なっても温度分布の傾向は類似していることがわかる。

より現実に近い推定温度分布を得るために,  $X(\mathbf{u})$ の空間的変動を考慮する。すなわち,  $X(\mathbf{u})$ とOKによる推定値 $Z^*(\mathbf{u})$ との差を次式のように $D^*(\mathbf{u})$ に付加し,  $D^*(\mathbf{u})$ にばらつきを与えることを試みた。これは海面でその差が大きい地点は, 水深方向でも大きいという仮定に基づく。

$$D(\mathbf{u}) = \left( 1 + \frac{X(\mathbf{u}) - Z^*(\mathbf{u})}{Z^*(\mathbf{u})} \right) \cdot D^*(\mathbf{u}) \quad (4)$$

これも各測点で $D(\mathbf{u})$ は $D(\mathbf{u}_i)$ に等しくなり, 条件付き推定を満足している。図8で $D^*(\mathbf{u})$ と $D(\mathbf{u})$ を比較する。全体的な傾向は同じであるが,  $D(\mathbf{u})^*$ ではほぼ同じ温度の領域でも $D(\mathbf{u})$ では温度が短い波長で変化している。また, シーンCでの湾奥北東の沿岸部のように, 海面で見られる局所的な高温域の影響は $D(\mathbf{u})$ のみに現れることが明らかになった。

### 2.3. 地磁気—地電流法による熊本平野の水理地質構造解析

地下水系の全体像の解明には, 水理地質構造を把握することが不可欠である。地表下浅部の水理地質構造はボーリング調査などにより把握できるが, 水理地質基盤は臨海沖積平野で特に深部に位置し, その分布形態の推定は困難である。そこで, 可探深度が大きいAMT法とMT法を併用して, 深部から浅部に至る比抵抗分布を推定することにより, 熊本平野の水理地質構造の解析を試みた。測定による各周波数での見掛け比抵抗データに1次

元インバージョンを適用し、これに3次元最適化原理に基づく補間によって、熊本平野の深度5 km までの3次元比抵抗分布モデルを作成した。その結果の一例として、東西方向の比抵抗分布垂直断面図を図9に示す。

図より熊本平野から有明海沿岸部まで標高-2000m 付近に低比抵抗帯が連続しているのが明らかであり、浅層水理地質基盤の下位に深層地下水系の存在が推定できた。これは、御船層群の透水性の高い砂岩層の分布に関連していることが考えられる。沿岸部の狭い範囲で標高-4000m 付近にも帯水層が存在する可能性が指摘できる。また、布田川断層沿いに低比抵抗帯が顕著に現れた。

さらに、菊池台地付近では第1、第2の2つの深層地下水系が推定できたが、有明海沿岸部ではそれらが1つになるようである。これは第1深層水理地質基盤岩の層厚が薄くなり、MT法による探査の空間分解能では把握できないためと考えられる。

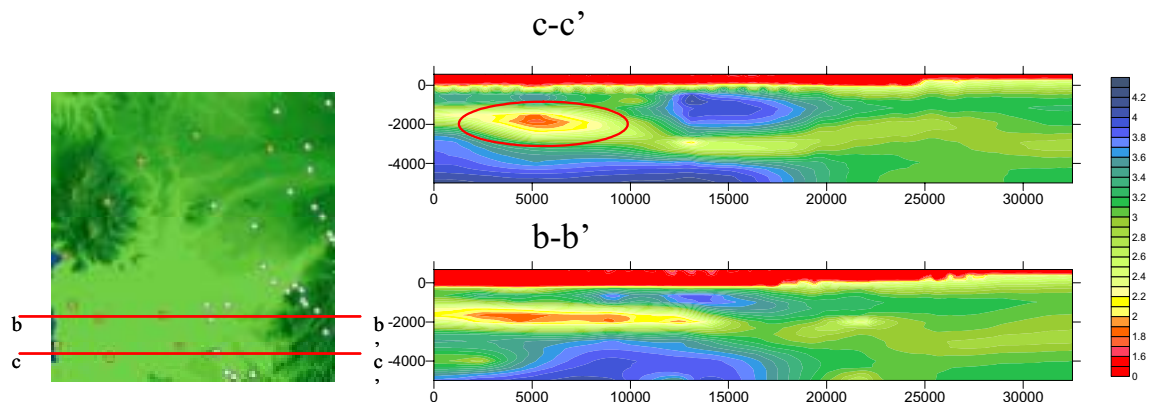


図9 熊本平野における深度5 km までの比抵抗分布の東西方向垂直断面図

### 3. 成果の達成度

3つのサブテーマともに平成15年度の問題点に対処し、新たな手法を提案するとともに、妥当な解析結果や測定データを増やすことができた。高層気温・湿度を考慮した放射熱伝達理論から、海面温度推定に関する考察も深められた。これらの観点からは、前述の平成16年度の目的・目標に関してほぼ達成できたと考える。しかしながら、海面温度以外の環境因子に注目した衛星画像解析、原位置でのスペクトル解析に関しては不十分であり、次年度への継続課題となった。

## 4. H17年度の目的・目標

### 4.1. 衛星リモートセンシング

- ・海面温度以外に海水や河川水の混濁度、植物プランクトン量という代表的な環境因子に注目し、その時空間分布をLANDSAT画像やTerra/ASTER画像における複数のバンドデータの多変量解析によって抽出できる手法を考案する。

- ・複数の箇所から干潟堆積物をサンプリングし、分光反射率と粒径分布の測定を継続する。これによって分光反射率から粒径分布を推定するのに有効な手法を考案する。また、この手法を衛星画像に適用し、画像から粒径の広域分布、およびその時間的変化を推定できるようにする。

#### 4.2. 数理モデル

- ・水温や栄養塩濃度に塩分濃度などの他の水質環境データも加えて解析を進める。
- ・時空間データの実験セミバリオグラムからセミバリオグラムモデルを作成するための手法について検討を加える。
- ・成分間の相関性を考慮した多変量時空間地球統計学を定式化し、データへの適用によって有効性を検証する。

#### 4.3. 地磁気ー地電流計測

- ・AMT と MT 法によるこれまでの測定データを詳細に解析することで、涵養域から流出域までの地下水系の全体像を明らかにする。これに海底電気探査を組み合わせ、有明海底に湧水する地下水の経路も比抵抗分布から推定する。

### 5. H16 年度の研究費取得状況

- ・寄附金：民間企業より計 2,200 千円
- ・共同研究費：国立極地研・京都大学防災研，計 250 千円
- ・科学研究費 基盤研究 B(2)：申請中

### 6. H16 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）

麻植久史・小池克明・高倉伸一・吉永徹・大見美智人 (2004) MT 法による活断層深部の破碎構造解析, 応用地質, vol. 45, no. 2, pp. 60-70.

小池克明・吉永徹・水上陽誠・西山賢一 (2004) 分光反射率・放射率を用いた岩石物性の風化指標, 日本リモートセンシング学会誌, vol. 24, no. 3, pp. 267-281.

小池克明・劉 春学・田村綾子 (2005) 閉鎖性海域環境の経年変化抽出への時空間地球統計学の適用, 情報地質, vol. 16, no. 1, pp. 3-15.

麻植久史・小池克明・吉永徹・高倉伸一 (2005) MT 法による阿蘇山火口西側域の地熱貯留層モデリング, 日本地熱学会誌, vol. 27, no. 2 (in press).

- ・国際誌（欧文）

Koike, K. and Matsuda, S. (2005) Spatial Modeling of Discontinuous Geologic Attributes with Geotechnical Applications, *Engineering Geology*, vol. 78, nos. 1/2, pp. 143-161.

Asaue, H., Koike, K., Yoshinaga, T., and Takakura, S. (2005) Magnetotelluric Resistivity Modeling for 3D characterizing the Geothermal Reservoirs in the Western Side of Mt. Aso, SW Japan, *Journal of Applied Geophysics* (in press).

Masoud, A. and Koike, K. (2004) Land Cover Change Modeling for Salinization Prediction Integrating Remote Sensing and GIS in Siwa Region, NW Egypt, *Proc. GeoInformatics for Spatial-Infrastructure Development in Earth & Allied Sciences: GIS-IDEAS 2004*, Hanoi University of Science, Vietnam, CD-Rom Press.

- Asaue, H. and Koike, K. (2004) Geostatistical Simulation of Magnetotelluric Resistivity Distribution for Characterizing Hydrogeologic Structures, *Proceedings of 2<sup>nd</sup> International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, pp. 123-128.
- Moukana, J. A., Masoud, A., and Koike, K. (2004) Spatio-temporal Variability Modeling of Groundwater Levels Associated with Land-cover Changes, *Proceedings of 2<sup>nd</sup> International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, pp. 135-142.
- Masoud, A. and Koike, K. (2004) Detection and Analysis of Lineament Patterns Using LANDSAT-7 ETM+/SRTM DEM and Its Hydrogeologic Application in Siwa Region, NW Egypt, *Proceedings of 2<sup>nd</sup> International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, pp. 151-158.
- Heriawan, M. N. and Koike, K. (2004) Capability of Ordinary Kriging for Estimating Coal Deposit: Some Problems Encountered and Practical Solutions, *Proceedings of 2<sup>nd</sup> International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, pp. 159-168.
- Liu, C., Tamura, A., and Koike, K. (2004) Space-time Geostatistical Modeling for Sea Environment with a Case Study of Ariake Sea, *Proceedings of 2<sup>nd</sup> International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, pp. 233-240.
- Tamura, A., Fukuda, R., Liu, C., and Koike, K. (2004) Combination of Satellite Image and Filed Point Data for Estimating Three-dimensional Temperature Structures in Ariake Sea, *Proceedings of 2<sup>nd</sup> International Workshop on Earth Science and Technology*, Fukuoka, Japan, pp. 343-348.

## (2) 原著論文以外による発表

- 小池克明・上堀内利道・三箇智二 (2004) 多方位 DEM 陰影図の分解能と抽出リニアメントの関係, *情報地質*, vol. 15, no. 2, pp. 90-91.
- 小池克明・黒木隆生 (2004) スケール則を用いた地球統計学的推定法と空間分布モデリングへの応用, *情報地質*, vol. 15, no. 2, pp. 92-93.
- Liu C. and Koike, K. (2004) Colligation of Multiple Geologic Information for Mineral Resource Exploration, *情報地質*, vol. 15, no. 2, pp. 96-97.
- Moukana, J. A., Koike, K., and Masoud, A. A. (2004) Spatio-Temporal Analysis of Groundwater Level Using Remote Sensing and Geostatistical Techniques, *情報地質*, vol. 15, no. 2, pp. 100-103.
- Teng, Y. and Koike, K. (2004) 3D Imaging of Geothermal System in Hohi Area Using Well Logging Data Set, *情報地質*, vol. 15, no. 2, pp. 128-131.

## (3) 学会発表

- Liu C., Lin Y., and Koike, K. (2004) Integrating Comprehensive Information to Predict Mineral Resource at Gaosong field in Gejiu tin mine, *資源・素材学会九州支部平成 16 年度春季例会講演要旨集*, pp. 30-32.
- Teng, Y. and Koike, K. (2004) Geothermal System Analysis in Hohi Area Using Well Logging Data Set, *資源・素材学会九州支部平成 16 年度春季例会講演要旨集*, pp. 33-35.
- Tamura, A. and Koike, K. (2004) Spatio-Temporal change Analysis of Sea Surface Temperature using Thermal Infrared Band Data of Landsat TM, *32<sup>nd</sup> International Geological Congress*, Florence-Italy, August 20-28, G03.09.
- Koike, K. and Kuroki, T. (2004) Spatial Estimation by Considering Scaling Law of Geologic Data With Application to Pore Distribution Modeling in Porous Media, *32<sup>nd</sup> International Geological Congress*, Florence-Italy, August 20-28,

G13.03.

Koike, K., Kamihoriuchi, T., and Sanga, T. (2004) Synthetic Lineament Analysis for Detecting Fracture Systems by Shaded DEM and Satellite Images, *32<sup>nd</sup> International Geological Congress*, Florence-Italy, August 20-28, G13.05.

Koike, K. and Matsuda, S. (2004) Sensitivity Analysis of Spatial Estimation to Identify Influence Factors of Geologic Data Distribution, *32<sup>nd</sup> International Geological Congress*, Florence-Italy, August 20-28, G13.06.

Ueki, T., Koike, K., Kouda, R. and Inokuchi, T. (2004) Detecting Topographic Features of Landslide Area with Three-Dimensional Analysis of Satellite Lineaments, *32<sup>nd</sup> International Geological Congress*, Florence-Italy, August 20-28, G13.06.

Asaue, H., Koike, K., Tanaka, N., Yoshinaga, T., and Takakura, S. (2004) Three-dimensional Hydrogeologic Modeling by a Combination of Magnetotelluric and Audio-Magnetotelluric Methods, *32<sup>nd</sup> International Geological Congress*, Florence-Italy, August 20-28, T08.04.

小池克明・劉 春学・田村綾子 (2005) ハードデータとソフトデータの組み合わせ—衛星画像を用いた海域水温分布推定への適用例—, 資源・素材学会春季大会講演集(I)資源編, 企画—63-64.

植木俊明・古宇田亮一・小池克明 (2005) 広域防災のための3D震源マッピング, 資源・素材学会春季大会講演集(I)資源編, 企画—65-66.

Masoud, A. and Koike, K. (2005) Remote sensing and GIS integration for groundwater potentiality mapping in Sinai Peninsula, Egypt, 資源・素材学会春季大会講演集(I)資源編, 企画—73-74.

Heriawan, M. N. and Koike, K. (2005) Multivariate geostatistics modeling for coal quality data, 資源・素材学会春季大会講演集(I)資源編, 79-80.

## 平成16年度研究成果報告

研究課題名： 有害イオンによる汚染水の高速浄化を目的とした繊維状吸着剤の開発に関する研究

所属・氏名：工学部・城 昭典

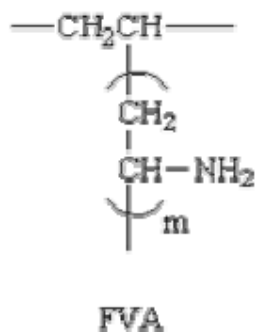
### 1. 研究目的・目標

#### H15年度～21年度における目的・目標

地表水（河川、湖沼、地下水ならびに海水）の重金属イオン、ホウ酸イオン、ヒ酸イオンなどの有害イオンによる水質汚染は、深刻な環境問題を起こしてきた。また、最近では、天然由来の有害イオンによる水質汚染も注目されるようになった。たとえば、ガンジスデルタの地下水のヒ素汚染は史上最大規模の慢性ヒ素中毒を起こしている。また、20世紀後半からアジアやアフリカにおいて指数関数的に人口が増加しており、これに伴う産業の拡大により、2030年頃には地球規模で深刻な水不足が起こるものと予測されている。従って、低濃度の有害イオンで汚染された膨大な量の水の高速浄化の技術を開発することは極めて重要であり、有害イオンに高選択性を示すのみならず迅速な吸着速度を有する吸着剤の開発が必要不可欠である。現在、希薄な有害イオンで汚染された水の浄化においては、イオン交換樹脂ならびにキレート樹脂が使用されているが、これらの吸着剤の最大の短所は遅い吸着速度である。本研究では、吸着速度が迅速なキレート性繊維を用いる低濃度の有害イオンで汚染された水の高速浄化技術を開発することを目的とした。

#### H16年度の目的・目標

既存のベンジルトリメチルアンモニウムを交換基とする陰イオン交換樹脂ならびに陰イオン交換繊維は、交換体相の疎水性が高いので水和の程度が低い陰イオンに高選択性を示す。したがって、これらの有機イオン交換体は、天然水中の主要陰イオンである塩化物イオンならびに硫酸イオンの共存下においてリン酸ならびにヒ酸の陰イオン種を吸着することが困難である。本年度は、交換体相の親水性が高くかつ第一アミノ基を有する陰イオン交換繊維（構造は下図参照、略称FVA）を合成し、そのリン酸ならびにヒ酸の陰イオン種に対する選択性ならびにカラム法における吸着特性を評価することを目的とした。



## 2. 研究成果

### (1) 前年度までの主な成果

筆者らは原研高崎研究所と共同で電子線前照射液相グラフト重合法を用いて、ポリオレフィン繊維（直径約10 $\mu\text{m}$ ）にグリシジルメタクリレート、クロロメチルスチレン、スチレン、ビニルピフェニルなどのビニルモノマーをグラフト重合した後、グラフトポリマー鎖部位に官能基導入反応を行い、リン酸、ホスホン酸、イミノ二酢酸などをキレート形成基として有する新規のキレート繊維を開発してきた。これらのキレート繊維は、カラム法によるmMレベルの各種重金属イオンの吸着操作において、空間速度で1000 h<sup>-1</sup>程度まで標的重金属イオンの漏出容量がカラムへの通液速度依存性がみられないほど迅速な吸着速度を示した。一方、工業的規模の分離において用いられている半径が100–250 $\mu\text{m}$ の球状樹脂を充填したカラムでは、通液速度が50 h<sup>-1</sup>以上になると漏出容量が顕著に減少する。すなわち、筆者らが電子線前照射液相グラフト重合法を用いて開発したキレート繊維は、カラム法におけるPb(II)などの重金属イオンの吸着において、工業用キレート樹脂の100倍以上の吸着速度を有することを実証してきた。

### (2) 平成16年度に得られた成果

#### ① 新規陰イオン交換繊維の合成

本研究で用いた基体繊維はポリエチレンで被覆されたポリプロピレン繊維(PPPE)である。PPPEの短繊維とその不織布を用いた(Fig. 1参照)。短繊維はカラム法で用いる陰イオン交換繊維の合成に使用し、不織布はバッチ法による平衡論的性質（陰イオン選択性など）の評価に用いる陰イオン交換体の合成において用いた。

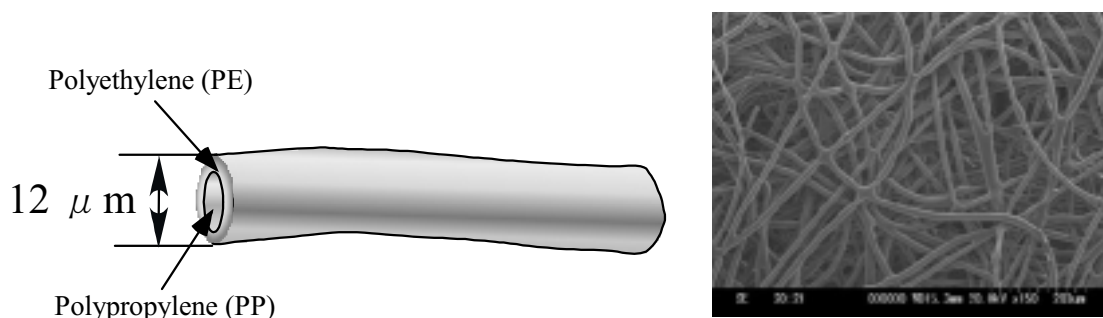


Fig. 1 陰イオン交換繊維の合成に用いた基体繊維の構造。左図は短繊維を示し、右図はその不織布のSEM像（原研提供）を示す。

グラフト重合の反応経路をFig. 2に示す。まず、基体繊維に窒素雰囲気下で電子線(2 MeV, 200 KGy)を照射してラジカルを発生させた。つづいて電子線を照射した基体繊維をN-ビニルホルムアミドのメタノール溶液(25–30重量%)に40 °C, 4時間浸漬して基体繊維とほぼ同重量のN-ビニルホルムアミドを基体繊維上にグラフト重合した。つづいてFig. 3に示すように、N-ビニルホルムアミドをグラフト重合した繊維を2 M水酸化ナトリウム水溶液中で80 °Cで約6時間加熱しアミド部位を加水分解して目的の弱塩基性繊維を合成した。

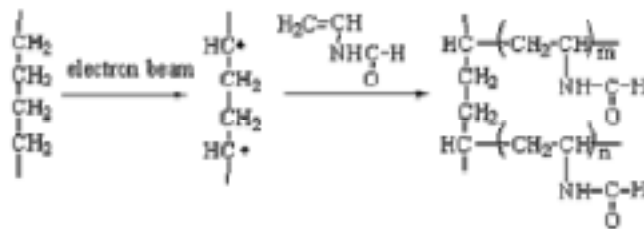


Fig. 2 電子線前照射液相グラフト重合法によるN-ビニルホルムアミドのグラフト重合

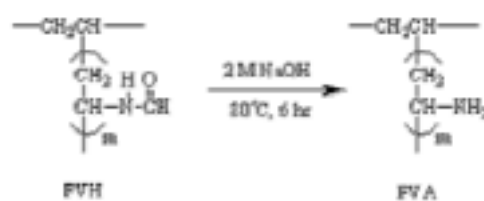


Fig. 3 N-ビニルホルムアミドがグラフト重合された繊維のアルカリ加水分解反応

② 合成した陰イオン交換繊維のキャラクタリゼーション

得られた陰イオン交換繊維の赤外線吸収スペクトルにおいて、その前駆体でみられたカルボニル基の吸収が消滅したことならびにその大きな陰イオン交換容量(4 mmol/g)により、第一アミン型陰イオン交換繊維が得られたことを確認した。リン酸ならびにヒ酸の陰イオン種に対する吸着量のpH依存性を検討した。結果の例として、Fig. 4にヒ酸の陰イオン種のpH依存性を検討した結果を示す。共存塩非存在下ではpHの増加とともに吸着量は減少した。これは、pHの増加とともに、陰イオン交換繊維においてプロトンが結合したアミノ基量が減少することならびにヒ酸の陰イオンが1価から2価に変化していくことが重畳されるためである。リン酸についてもほとんど同様の結果が得られた。

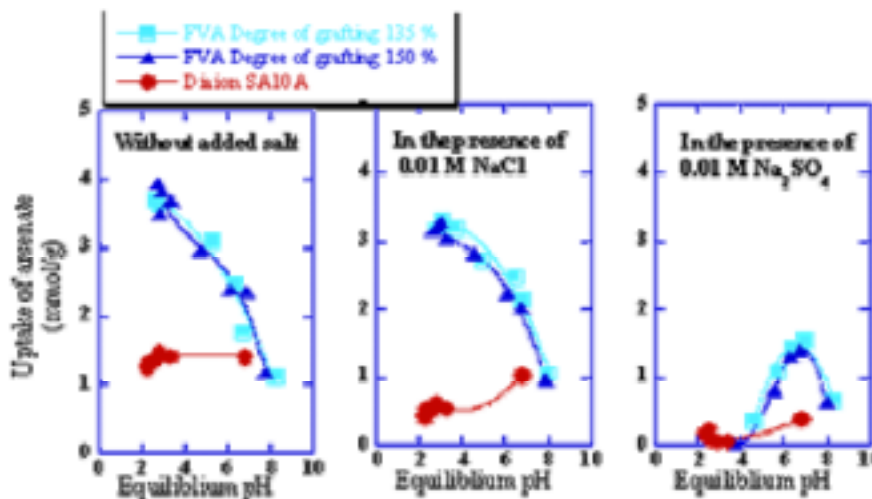


Fig. 4 ヒ酸陰イオンの吸着に及ぼすpH、塩化物イオンならびに硫酸イオンの影響

溶液： pHの異なる0.01 M ヒ酸塩溶液



### ③リン酸ならびにヒ酸イオンの吸着に及ぼす共存陰イオンの影響の検討

この繊維はpH 3以下の強酸性溶液中では、1価のリン酸ならびにヒ酸の陰イオン種に対して4 mmol/gにも及ぶ大きな陰イオン交換容量を有するが、塩化物イオンならびに硫酸イオンの妨害が大きい。一方、リン酸ならびにヒ酸が2価陰イオンとして存在するpH領域(pH6 - 8)においては、吸着容量は減少するが、塩化物イオンならびに硫酸イオンの妨害がかなり軽減されていることが判る(Fig. 4)。これは、リン酸ならびにヒ酸の2価陰イオンの水素イオンとの結合性が塩化物イオンや硫酸イオンのそれより強いいため、リン酸ならびにヒ酸の2価陰イオンの吸着においては、通常の静電的イオン交換機構に加えて、イオン交換基と対立イオン間の水素結合も大きな寄与をするためである。比較の目的で、従来の市販陰イオン交換樹脂であるDiaion SA10Aによるヒ酸イオンの吸着の検討も行った(Fig. 4)。既存の樹脂ではヒ酸の吸着量も小さく、塩化物イオンならびに硫酸イオンの存在下ではヒ酸の吸着が大きく阻害されていることがわかる。

### ④ カラム法で用いる短繊維状陰イオン交換繊維の合成とキャラクターゼーション

①で述べたポリエチレン被覆ポリプロピレン(PPPE)の不織布を用いた FVA の合成法に従って、PPPE の短繊維(径 0.9 denier, 長さ 38mm)を基体繊維として、カラム法で用いる第一アミン型陰イオン交換繊維を合成した。この繊維の窒素含量は4.3mmol/gであった。また、この繊維は広い pH 範囲(0 - 14)で湿潤体積の変化が少なく、カラム法における高速通液に適していることも判った。

### ⑤ 短繊維状陰イオン交換繊維を充填したカラムによるリン酸ならびにヒ酸の陰イオンの吸着

pH が7である 0.01 M リン酸塩またはヒ酸塩水溶液を、短繊維状陰イオン交換繊維(FVA)を充填したカラムに通液して飽和吸着量を求めたところ、約2mmol/gであった。さらに詳細な検討をヒ酸について行った。ヒ酸塩濃度 0.15 - 10mM の範囲の溶液を空間速度 30 h<sup>-1</sup>で通液したところ 5%漏出容量は 0.32 - 0.95mmol/gであった。また、ヒ酸塩濃度が 0.15mM である溶液を異なる通液速度 30, 100 ならびに 200 h<sup>-1</sup>でカラムに供給した場合、漏出容量はそれぞれ 0.32, 0.25, 0.22mmol/g となり、通液速度の増加とともに漏出容量が減少する傾向がみられた。以上の結果を参考にして、As 濃度が 1 ppm(1.3 x 10<sup>-5</sup>M)のヒ酸塩溶液(pH6.4)を空間速度 500 h<sup>-1</sup>で通液した。その結果を Fig. 5 に示した。カラムからの漏出液中の As 濃度がWHOの飲用水基準である 0.010 ppm に到達するまでに、カラム内の湿潤イオン交換繊維床体積の 4000 倍の体積のヒ酸塩溶液の浄化が可能であった。以上の結果より、本研究で開発した新規第一アミン型陰イオン交換繊維はヒ酸やリン酸を低濃度で汚染された水の高速度浄化に適したイオン交換体であることが判った。

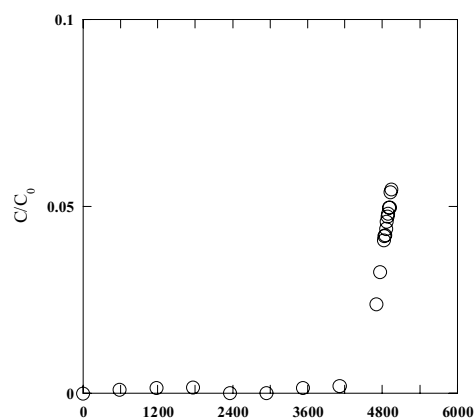


Fig. 5 FVA 充填カラムによるヒ酸イオンの吸着

供給液：1 ppm As(V) pH 6.4

通液速度 500 h<sup>-1</sup>

カラム：1.7 mL of FVA (0.40g)

## 3. 成果の達成度

リン酸やヒ酸の陰イオン種に高選択性を示す吸着剤は、これまで硬いLewis酸に属する金属イオン(Fe(III), Zr(IV)など)を担持したイオン交換樹脂やキレート樹脂を用いる配位子交換機構で

のみ実現されてきた。本研究で開発した新規の弱塩基性陰イオン交換繊維は、リン酸ならびにヒ酸の吸着において塩化物イオン、硫酸イオンの妨害の少ないはじめの純有機系イオン交換体である。また、吸着速度も従来の粒状樹脂より格段に迅速で、吸着操作に要する時間を従来の樹脂充填カラムの1/100まで短縮できる見通しを得た。

#### 4. 今年度の問題など

特になし。

#### 5. 来年度の目的・目標

自然界において、リンはリン酸塩として存在するケースが多いが、ヒ酸はヒ酸塩と亜ヒ酸塩の二つの形態で存在する。平成17年度は亜ヒ酸の吸着挙動について検討する。また、繊維の表面のみに2-3 $\mu\text{m}$ のイオン交換相を有するイオン交換繊維を開発し、さらなる吸着速度の向上を図る。

#### 6. 研究費取得状況

- (1) 科学研究費補助金、基盤研究(c)2, 2000-2001年、360万円、超高速金属イオン吸着性のイミノ二酢酸型キレート繊維の開発に関する基礎研究
- (2) 奨学寄附金(栗田工業株式会社)、2002-2003年、200万円、イオン交換膜とイオン交換樹脂を併用する電気透析法による超純水製造に関する研究の奨励
- (3) 西田鉄鋼研究基金助成, 2003-2004年、120万円、超高速でリン酸ならびにヒ酸イオンを選択的に吸着する新規陰イオン交換繊維の開発と応用
- (4) 民間との共同研究(三井金属鉱業株式会社)、2004-2005年、200万円、フッ化物イオンに高選択性の吸着剤開発

#### 7. 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) 城 昭典、“イオン交換に基づいたイオン成分の高選択的検出ならびに分離法の開発に関する研究(平成13年度日本イオン交換学会賞受賞論文)”, 日本イオン交換学会誌, 14(1), 8-23(2003).

2001年以後:他に国内欧文誌に8件

2) 国際誌(欧文)

- (1) Zhu, X. and Jyo, A. (2001).  
Removal of Arsenic(V) by Zirconium(IV)-Loaded Phosphoric Acid Chelating Resin, Separation Science and Technology, 36(14),3175-3189.
- (2) Yamabe, K., Ihara, T., and Jyo, A. (2001).  
Metal Ion Selectivity of Macroreticular Chelating Cation Exchange Resin with Phosphonic Acid Groups Attached to Phenyl Groups of a Styrene-Divinylbenzene Copolymer Matrix. Separation Science and Technology, 36(15), 3511-3528..

- (3) Trochimczuk, A. W., Aoki, S., Yamabe, K., and Jyo, A. (2002).  
Synthesis of Porous Divinylbiphenyl Copolymer and Their Sorptive Properties towards Phenol and Its Derivatives.  
European Polymer Journal, 38(6), 1175-1181.
- (4) Trochimczuk, A. W., Aoki, S., Yamabe, K., and Jyo, A. (2002).  
Synthesis of Porous Vinylnaphthalene/Divinylnaphthalene Copolymers and Their Sorptive Properties towards Phenol and Its Derivatives.  
European Polymer Journal, 38(5), 941-945.
- (5) Kolthoff, I. M., Chantooni, M. K. Jr., and Jyo, A. (2002).  
Equilibrium Constants of the Gamma-Sultone and Extraction Constants of Potassium Ions from Water into Benzene in Presence of 18-Crown-6 and Bromocresol Green.  
Talanta, 57(5), 869-873.
- (6) Jyo, A., Kugara, J., Trobradovic, H., Yamabe, K., Sugo, T., Tamada, M., Kume, T. (2004).  
Fibrous Iminodiacetic Acid Chelating Cation Exchangers with a Rapid Adsorption Rate.  
Industrial and Engineering Chemistry Research, 43(7), 1599-1607.
- (7) Jyo, A., Kudo, S., Zhu, X., and Yamabe, K. (2005).  
Zirconium(IV) Loaded Diaion CRP200 Resin as a Specific Adsorbent to As(III) and As(V).  
Environmental Science Research, 55, 29-47.
- (8) Jyo, A., Okda, K., Tamada, M., Kume, T., Sugo, T., Tazaki, M. (2005).  
Bifunctional Cation Exchanger Fibers Having Phosphonic and Sulfonic Acid Groups.  
Environmental Science Research, 55, 49-62.

③口頭発表 (H16年度)

1) 国外で開催された国際会議においてJyoがOralで発表した分

- 1) Jyo, A., Matsuura, R., Hamabe, Y., Sugimoto, M., Tamada, M., Katagai, A., and Yoshii, F., (2004).  
“Properties of Bifunctional Phosphonate Fibers Derived from Chloromethylstyrene Grafted Polyolefine Fibers”, 11<sup>th</sup> International Conference on Polymers and Organic Chemistry 2004, Hotel Krystal, Prague, Czech Republic, July, 18-23(2004).
- 2) Jyo, A., and Hamabe, Y., (2005).  
Rapid Uptake of Heavy Metal Ions from Their Dilute Solutions.  
229<sup>th</sup> American Chemical Society National Meeting, San Diego, CA, United States, March 13-17, 2005,

2) 他に国際会議1件、国内学会8件

## 平成16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。実際には、水の中の有害金属元素および有害無機陰イオンの定量と固定ならびに除去、廃棄物からの有害金属元素の水への溶出防止、廃棄物に含まれる金属元素の分離・回収を目的とする。

#### H16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処分されている。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、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溶融処理した際に発生する溶融飛灰を無害化し、同時に有価金属を回収するための酸による浸出プロセスについて検討を加えた。

### 2. 研究成果

#### (1) 前年度までの主な成果

前年度までは、一般廃棄物を焼却した時に発生する焼却灰を減容化して無害化するための溶融処理プロセスについて検討を加えた。すなわち、焼却灰を高温で溶融してスラグ化する際のスラグ組成や熱処理条件が鉛の溶出性に及ぼす影響について検討し、鉛の溶出を防止する処理条件を確立した。

#### (2) 当該年度に得られた成果

一般廃棄物を焼却する時に発生する飛灰および焼却灰を溶融してスラグ化させる際に発生する溶融飛灰の無害化と、これら飛灰からの有価金属の回収を目的として、今年度は飛灰の塩酸浸出と硫酸浸出を行った。研究に用いた飛灰の組成を表1に示す。研究対象とした飛灰は、飛灰捕集時にアルカリ成分を吹き込まずに捕集した飛灰(A)、石灰乳を吹き込んで捕集した飛灰(B)、炭酸ソーダを吹き込んで捕集した飛灰(C)、ならびに市中の一般的な溶融飛灰(D)の4種類である。なお、表1の化学組成には、それぞれの飛灰の経歴による組成の違いが現れている。研究対象とした金属元素は、飛灰に比較的多く含まれる鉛と亜鉛としたが、銅や鉄などの共存する金属元素の挙動についても検討を加えた。

図1に飛灰Aの塩酸による浸出結果を示す。図の縦軸は、各元素の浸出率、横軸は浸出に用いた塩酸濃度である。なお、実験条件は、浸出温度50℃、浸出時間30分で、パルプ濃度は100g/lである。また、図2には、飛灰Bの塩酸浸出結果を示した。実験条件は、図1のものと同じであ

表1 試料の飛灰の化学分析組成

	Fly ash A	Fly ash B	Fly ash C	Fly ash D
SiO <sub>2</sub> (%)	18	9.2	12	7.27
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (%)	13.8	4.7	7.1	1.78
CaO (%)	16.9	45.7	10.5	12.73
Na <sub>2</sub> O (%)	7	2.8	24.9	16.17
K <sub>2</sub> O (%)	5.9	2.1	3.4	8.55
Pb (mg/kg)	9250	2370	4700	16000
Cd (mg/kg)	540	400	130	400
As (mg/kg)	17	9.7	13	<100
Zn (mg/kg)	46400	8530	15100	60000
Cu (mg/kg)	2380	520	1030	2500
Cr (mg/kg)	450	150	350	<100
Se (mg/kg)	<1	<1	<1	<100
S (mg/kg)	21000	11000	25000	9200
Cl (mg/kg)	130000	196000	274000	320000
Fe (mg/kg)	9200	13000	4200	9400

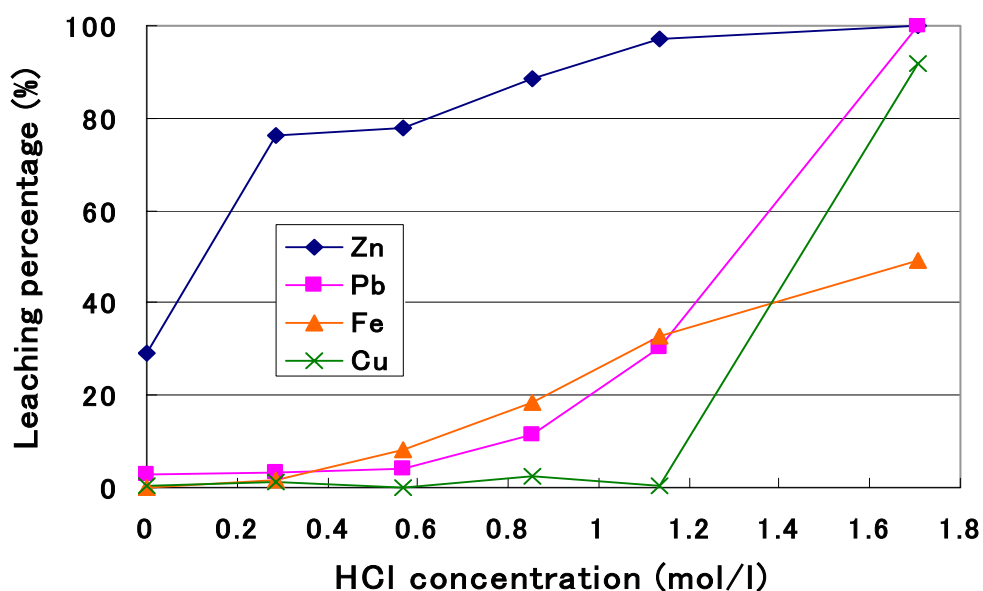


図1 飛灰Aの塩酸浸出結果

る。

図から明らかなように、塩酸浸出では、熔融飛灰中の亜鉛、鉛、銅、鉄が非選択的に浸出された。また、石化乳を吹き込んで捕集した飛灰 B では、塩酸濃度が 0.8 mol/l まで、いずれの元素の浸出率もほぼ 0 であり、これは飛灰中の石灰分により酸が消費され、この酸濃度までは金属元素の浸出に酸が寄与しなかったと推察される。

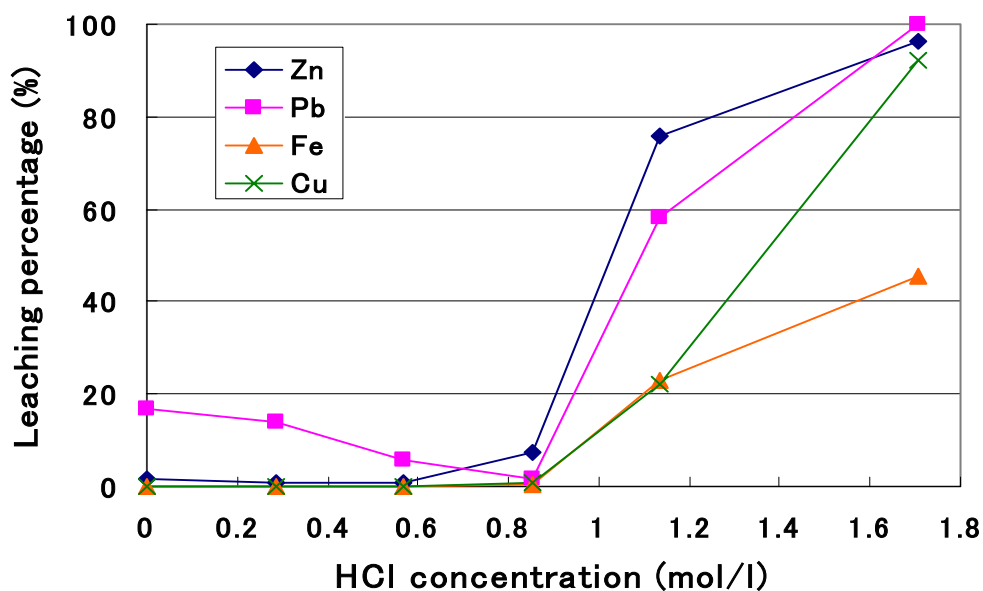


図2 飛灰Bの塩酸浸出結果

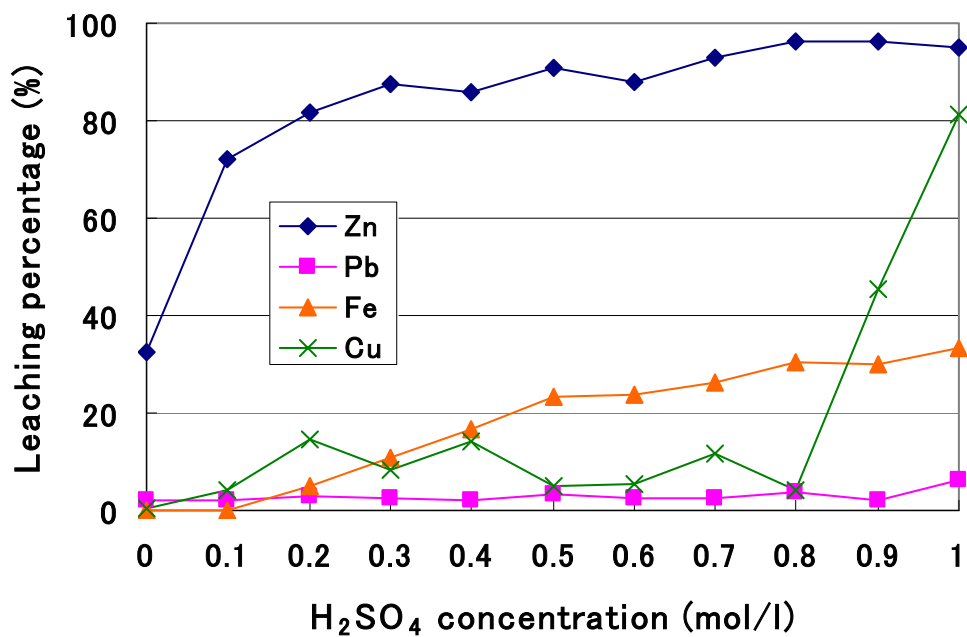


図3 飛灰Aの硫酸浸出結果

図3に飛灰Aの硫酸による浸出結果を示す。実験条件は、浸出温度30℃、浸出時間30分で、パルプ濃度は100g/lである。図1および図2に示した塩酸浸出との大きな違いは、鉛がほとんど浸出されないことである。これは硫酸浸出では鉛が難溶性の硫酸鉛になるためである。

図4には、飛灰Dの塩酸浸出の結果と硫酸浸出の結果を対比させて示した。塩酸浸出では、やはり溶融飛灰中の金属元素が非選択的に浸出された。このため塩酸浸出は、溶解した金属元素を分離するための後処理が複雑になるが、残渣に鉛が入らないため、飛灰の無害化には有効な手段であると考えられる。一方、硫酸浸出では鉛が硫酸鉛になるため、鉛は浸出されなかった。また、亜鉛と銅の選択浸出もある程度可能であった。なお、これらの金属元素を浸出するのに必要な酸濃度は、硫酸の方が塩酸よりも少なく済むことが分かった。このため硫酸浸出は、有価金属の回収には好都合であるが、残渣に鉛が入るため、残渣処理をする必要がある。来年度は、これら金属元素が溶解した溶液からの金属元素の分離・回収について研究を行う予定である。

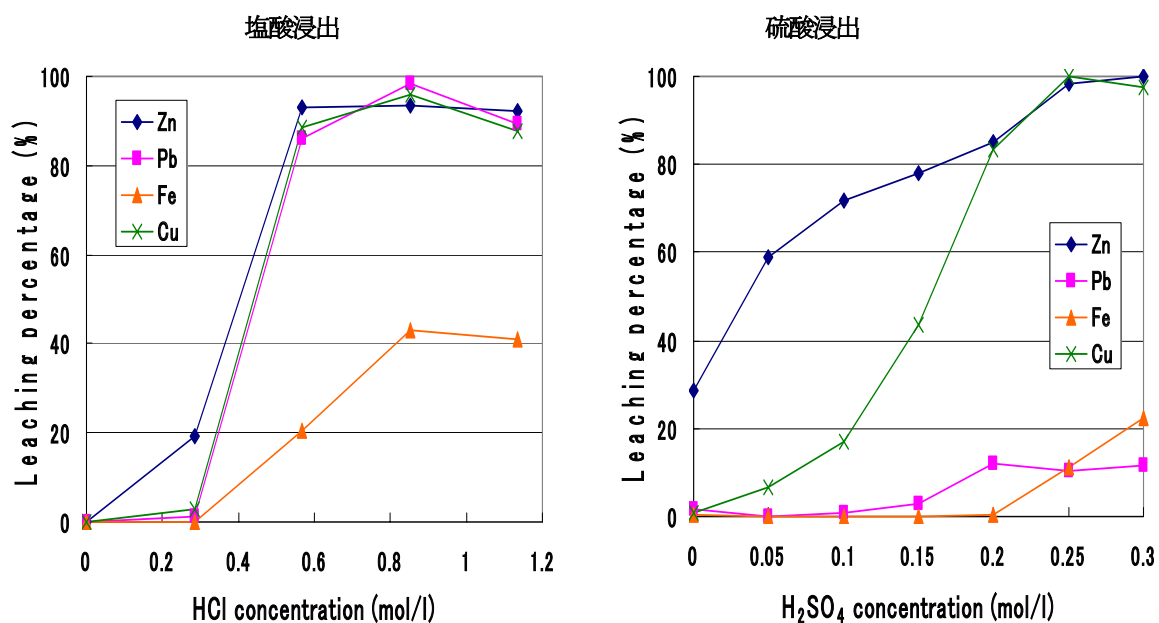


図4 飛灰Dの塩酸および硫酸による浸出結果

### 3. 成果の達成度

現在その処理が問題となっている焼却飛灰ならびに溶融飛灰を酸浸出して無害化し、同時に金属元素を回収する第1段階としての浸出処理についての知見が得られたため、今年度の目標は十分達成できたと考えている。

### 4. 今年度の問題など

特になし。

## 5. 来年度の目的・目標

今年度の研究によって得られた、飛灰を浸出させた溶液中に含まれる各種金属元素の分離・回収に関する研究を行う。また、浸出残渣の処理方法を検討し、一般廃棄物の焼却飛灰および溶融飛灰の無害化と有効利用技術を確立する。

## 6. 研究費取得状況

- (1) 平成 15 年度科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））代表  
「焼却灰溶融処理スラグの無害化および溶融飛灰からの金属回収」（1400 千円）
- (2) 平成 16 年度科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））代表  
「酸浸出—沈殿分離法による溶融飛灰からの有価金属の回収」（2600 千円）

## 7. 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）

### 2) 国内誌（和文）

- (1) 「製鋼ダストの酸浸出とその速度」：資源処理技術，第49巻，第1号，9-15頁，2002；河原正泰，藤田勇一
- (2) 「熱天秤を用いたマグネシア・カーボンレンガの酸化速度測定」：耐火物，第54巻，第9号，458-463頁，2002；砂山寛之，河原正泰
- (3) 「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」：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；河原正泰
- (4) 「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」：資源と素材，第114巻，第3号，195-199頁，1998；井上 章，河原正泰，
- (5) 「非鉄スラグの有効利用」：資源と素材，第113巻，第12号，995-998頁，1997；河原正泰

### 2) 国際誌（欧文）

- (1) “Effect of Intense Magnetic Fields on CdTe Electro-Deposition.”：Proceedings of Yazawa International Symposium on Metallurgy and Materials Processing, Vol. 1, pp.1185-1190, 2003；Toshiyuki Kozuka, Yoshiyuki Sugita, Masayasu Kawahara
- (2) “Oxidation Kinetics of Magnesia-Carbon Refractory.”：Proceedings of CIMTEC 2002-10<sup>th</sup> International Ceramic Congress and 3<sup>rd</sup> Forum on New Materials, Refractories-Trends in Research and Applications, pp. 15-22, 2002；Hiroyuki Sunayama, Masayasu Kawahara
- (3) “The Extraction and Separation of Nickel, Cobalt and Copper Using Solvent Impregnated Resin.”：Proceedings of Second International Conference on Processing Materials for Properties, San Francisco, USA, pp.965-968, 2000；Masayasu Kawahara
- (4) “Control of Mixing Phenomena between Two Liquids Using Lorentz Force.”：Proceedings of Second International Conference on Processing Materials for Properties, San Francisco, USA, pp.589-592, 2000；Toshiyuki Kozuka, Masayasu Kawahara
- (5) “Effect of Electromagnetic Force on Solidification Structure.”：Proceedings of 3<sup>rd</sup>



International Symposium on Electromagnetic Processing of Materials, pp.519-524, 2000 ;  
Toshiyuki Kozuka, Masayasu Kawahara

[特許]

なし

②原著論文以外による発表（今年度）

「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」：日本鋳業振興会研究成果報告書，  
日本鋳業振興会，107-112頁，2004；河原正泰

③口頭発表（今年度）

- (1) 「湿式方による飛灰からの金属の分離・回収」：資源・素材学会九州支部平成 16 年度春季例会講演用要旨集，60-62 頁，2004；佐藤健征，山下修平，河原正泰
- (2) 「亜鉛浄液滓からの金属元素の浸出特性」：資源・素材学会九州支部平成 16 年度春季例会講演用要旨集，63-65 頁，2004；長野晋作，河原正泰