

称号及び氏名 博士(緑地環境科学) 崔 益源

学位授与の日付 平成22年3月31日

論文名 生物的環境浄化による閉鎖系の水質改善に関する研究

論文審査委員 主査 小山 修平
副査 堀野 治彦
副査 北谷 善昭

論文要旨

第1章 緒言 (研究の背景と目的)

近年、発展途上国を中心に、爆発的な人口増加、都市化、高度な産業化による生活雑排水や工業排水の増加などによって自然水域の貴重な水が著しく汚染されている。特に、池沼のような閉鎖系水域の利用可能な汚染されていない水は、さらに減少の一途をたどっている。このような地域では、公共水域の自浄能力が喪失され、水質汚染がますます深刻化し生態系全体を破壊させることから、水質汚染に対する効果的な改善方法が切望されている。現在、排水あるいは廃水の浄化方法は、物理的、化学的及び生物学的な方法などであるが、一般に、これらの方法は、単独ではなく組み合わせて活用されている。しかし、これらの処理方法では、2次的な汚染についても問題となっている。したがって、ここでは最終的に、2次的な汚染が少なく、一定の効果が期待でき、しかも経済的な水質改善技法に繋がる基礎的な資料を得ること目標にしている。特に、本論文では、各方面で研究されている生物的環境浄化機能に着目し、水質環境の改善に対応可能な微生物(セレウス菌: *Bacillus cereus*)や海藻類(昆布: *Laminaria species*, ツルアラメ: *Ecklonia stolonifera*, テングサ: *Gelidium amansii*, ワカメ: *Undaria pinnatifida*)を用いて汚染された水溶液内の重金属の除去特性および生体としての水生植物(ハス, *Nelumbo nucifera* GAERTN)による水溶液内の窒素やリンの除去特性に関する研究を行い、それらの生物による水質改善特性を明らかにする。

第2章 微生物(*Bacillus cereus*)を用いた廃水溶液内の重金属の除去特性

第2章では、重金属で汚染した土壤中で重金属に対して強い耐性と優れた生物吸着能を同時に持っているといわれている微生物(セレウス菌：*Bacillus cereus*)を分離して重金属に対する耐性、吸着能及び吸着効率を高める方法について検討した。

その結果、重金属に対する当該微生物の耐性は、全体的に 400 mg/l 以上の汚染濃度でも高い耐性が現われた。当該微生物の重金属吸着能は $Pb > Cd > Cu > Zn$ の順に高い吸着能を表し、Pb, Cd および Cu に吸着選択度が高いことが分かってきた。細胞内における重金属の吸着形態は全般的に細胞壁(cell wall)と細胞膜(cell membrane)近傍に多くの電荷密度粒子(electron dense particles)が形成された。これはエネルギー分散型X線分光法(Energy dispersive X-ray spectroscopy)によって分析をした。そこに吸着された各重金属は、大部分が複合重金属(heavy metal complex)であることを確認することができた。重金属を吸着する場合、好適な pH は 5~7 の範囲である。温度の影響については、Cd と Cu の好適な温度は 25~35°Cであり、Pb と Zn は温度に対して、ほとんど影響を受けないことが確認された。燃焼法によって吸着した重金属の回収では、重金属を吸着した菌体を 550°Cで6時間燃焼した。その残さ量を調べると、重金属を吸着した菌体量に対して 27.3~36.5%である。また、セレウス菌(*Bacillus cereus*)の吸着能を活用して様々な重金属や複合重金属についても吸着・回収に適用できることを明らかにした。

第3章 海藻類(*Laminaria species*, *Ecklonia stolonifera*, *Gelidium amansii*, *Undaria pinnatifida*)による重金属の除去特性

第3章では、生物的吸着現象を利用した重金属の汚染(廃水)処理に関する基礎的な知見を得るために、一般に重金属に対し吸着能があるといわれる昆布(*Laminaria species*)、ツルアラメ(*Ecklonia stolonifera*)、テングサ(*Gelidium amansii*)およびワカメ(*Undaria pinnatifida*)など4種の海藻類を対象とし重金属の吸着特性を明らかにした。

その結果、海藻類の種類別による重金属の吸着能は $U. pinnatifida \geq Laminaria sp. \geq E. stolonifera > G. amansii$ の順であり、重金属 100 mg/l の濃度で Pb は 93~99% 程度が吸着し、Cu と Cd は 70~80% 程度が吸着された。ワカメ(*U. pinnatifida*)の重金属吸着はフロイントリッヒ(Freundlich)吸着等温式とラングミュア(Langmuir)吸着等温式にいずれもよく一致し、Cu, Cd および Zn に比べて Pb に大きな吸着親和度が現われることも分かった。ワカメ(*U. pinnatifida*)の重金属に対する吸着効率は、多成分の重金属に対するよりも単成分の方がより高く、脱着材としてNTA(Nitrilotriacetic acid)を処理した場合に吸着される重金属の脱着効率が最も高くなることが分かった。次に、重金属を吸着したワカメ(*U. pinnatifida*)を 550°Cで6時間燃焼した後、残さ量を調べた結果、重金属を吸着した乾燥重量に対して 25.1%~42.5%であった。さらに、

残さの表面を電子顕微鏡(SEM, JEOL, JSM-T330A)で観察した結果、残さ物は重金属の種類によって、さまざまな形態・様相を呈することが観察された。重金属を吸着したワカメをエネルギー分散型X線分光分析(EDS, JSM-6400, Jeol, Japan)によって観察すると重金属が吸着した表面における結合物の無機元素の組成を分析した結果、吸着した重金属について、それぞれの卓越スペクトルが確認された。それらの成分の重量%(element weight)は76.6%~98.3%吸着し、それぞれの重金属が大部分を占めることが分かった。本研究で用いた4種の海藻類における重金属の吸着特性を利用することで高効率で重金属の除去および回収できることが明らかになった。

第4章 水生植物(ハス, *Nelumbo nucifera* GAERTN)による水質改善効果

第4章では、水生植物(特に抽水植物)による水質改善効果に着目し、ヨシと同様に水質改善効果が期待されながら、現在までほとんど研究例が少なく、一般に栽培の容易な蓮(ハス:*Nelumbo nucifera* GAERTN)に注目し、人工的に汚染状態を設定して栄養塩類(窒素およびリン)の除去効果に関する基本的な水質改善実験を行い、生活雑排水の一次処理に活用できる可能性について考察した。

ハスのある汚染水槽において水中の全窒素(T-N)は約95%以上、除去され、水中の全リン(T-P)は、ハスのある汚染水槽では約80%除去されることが明らかになった。ハス体内の全窒素含有量は、水が汚染された直後と成長期(本研究では8月初旬)にハス体内の全窒素の含有量も大きく増加に転じ、ハスの成長も旺盛になることが分かった。一方、ハス体内の全リン含有量の変化は、ペプトンを加えた直後に高い全リン含有量を示したが、ハスの旺盛な成長が見られた時期から急激に全リン含有量が低くなっている。これはハスが成長を終えた段階で、それ以上リンが利用されなくなったと考えられる。また、ハスが成長する時期には土壌中の全窒素に大きな変化がなく概ね一定であるが、ハスが萎れた時期では全窒素の含有量が上昇する傾向が見られる。これはハスの根の部分が吸収した窒素の一部が湧出したと推察される。水に汚染を加えた直後、一旦、増加した水の全窒素濃度が急激に減少するが、ハス体内の全窒素変化も同様な傾向を示している。土壌中の窒素もハスの旺盛な成長期に若干の上昇傾向を示すが、8月末に減少しており、ハス体内の窒素変化、特に9月初めまでの増加はハス体内に吸収されたものであると考えられる。ハスが枯れた時期(10月初旬)にハス体内の窒素が土壌に一部溶出され、ハス体内の全窒素量が減少して、逆に土壌中の全窒素量が増加すると考えられる。ハスが枯れることで一部汚染物質が土壌中に取込まれることも確認されたが、ハスによる水質改善(特に全窒素の除去)が可能であることを明らかにした。さらに、水質調査項目による主成分分析の結果、水質改善効果を評価するための主要な関連要因を明らかにし、あいまい性や複雑な要因間のバラツキに対応できる非階層クラスタリング(ファジィC-means法)を導入することで計測の容易な水質指標である電気伝導度と一定の関連性を概ね確認することができた。

第5章 結言（総合考察及び今後の方向性）

本研究では、生物的環境浄化機能に着目し、水質環境の改善における微生物や海藻類および水生植物などの基本的な水質改善特性を実験的に考察した。特に、重金属の耐性を持つセレウス菌(*Bacillus cereus*)の細胞壁(cell wall)、細胞膜(cell membrane)に重金属(Pb, Cd および Cu)が吸着する特性を明らかにし水質改善に利用できることや、昆布(*Laminaria species*)、ツルアラメ(*Ecklonia stolonifera*)、テングサ(*Gelidium amansii*)およびワカメ(*Undaria pinnatifida*)など4種の海藻類における重金属の吸着特性を明らかにし高効率で重金属の除去および回収できることを示した。また、水生植物(ハス)は、全窒素及び全リンにおいて高い水質改善効果を持ち、富栄養化など水質汚染を抑制することも明らかにした。このように、限定された材料ではあるが、微生物から生体までの総合的な観点において、それぞれの水質改善特性を明らかにし、それらの特性を活用する基礎的な水質改善方法の可能性を提示した。本研究で提示した生物的環境浄化機能に基づく全ての水質改善特性は、将来的に閉鎖的な水域における水質改善方法の実用化や生物的な総合水質改善プラント等の設計に対し基礎的な資料として有用である。

審査結果の要旨

近年、発展途上国を中心に爆発的な人口増加と都市化による生活雑排水や急激な産業発展に伴う工業廃水によって、池沼等の多くの閉鎖系水域が著しく汚染されている。このような地域では、下水処理施設が不十分なため汚染されていない利用可能な水は、さらに減少の一途をたどっている。このまま汚染を放置すれば、公共的な閉鎖系水域では自浄能力が失われ水質汚濁がますます深刻化することになる。現在、閉鎖系水域の浄化方法には物理的、化学的および生物学的な方法が考えられている。これらの方法は、単独ではなく組み合わせて活用されているが、本研究の目的は、2次的な汚染が少なく、一定の水質改善効果が期待でき、しかも経済的な水質改善技法の開発に繋がるような基礎的資料を得ることである。特に、2次的な環境負荷が少ないとされている生物的環境浄化機能に着目し、淡水の水質環境の改善に適用可能な微生物(セレウス菌：*Bacillus cereus*)、収穫・冷凍保管後の海藻類(コンブ：*Laminaria species*)、ツルアラメ：*Ecklonia stolonifera*、テングサ：*Gelidium amansii*、ワカメ：*Undaria pinnatifida*)を用いて汚染された水溶液内の重金属の除去特性および生体としての水生植物(蓮「ハス」：*Nelumbo nucifera* Gaertn.)による水溶液内の窒素やリンの除去特性に関する研究を行い、それらの生物による水質改善特性を明らかにする。一般に微生物は、重金属イオンに対して耐性を持ち、その吸着特性について不明な点が多いものの細胞膜のイオンポン

プによる排出機構およびメタロチオネインという重金属と特異的に結合するタンパク質を発現し、重金属を吸着、無毒化する特性を有するともいわれている。

第2章では、重金属で汚染された土壌で重金属に対して強い耐性と優れた生物吸着能を同時に持つ微生物(セレウス菌)を分離して重金属に対する耐性、吸着能及び吸着効率を高める方法について検討した。その結果、重金属に対する当該微生物の耐性は、全体的に 400 mg/l 以上の汚染濃度でも高耐性が有し、当該微生物の重金属吸着能は $Pb > Cd > Cu > Zn$ の順に高い吸着能を持つことや、研究例の少ない複合重金属についても Pb, Cd および Cu に対して吸着選択度が高いことを明らかにした。また、電子顕微鏡とエネルギー分散型 X 線分光分析によって、重金属は全般的に細胞壁と細胞膜近傍に多くの電荷密度粒子を形成し、吸着された重金属は大部分が複合重金属であることを確認した。セレウス菌が重金属を吸着する場合、好適な pH は 5~7 の範囲であり、 Cd と Cu に対して好適な温度は 25~35°C で Pb と Zn は温度に対してほとんど影響を受けないことが確認された。燃焼法によって、吸着した重金属は重金属を吸着した菌体量に対して 27.3~36.5% であり、セレウス菌の吸着能を活用することで、複合重金属についても吸着・回収できることを明らかにした。一般に海藻類についても海水中から直接重金属を体内に取り込めるが、その機構は、エネルギーを必要とする代謝によるプロセスあるいは代謝とは無関係なプロセスによって生じるともいわれ明確ではない。特に、コンブやワカメが海藻類の中でも重金属の吸着能が高いとされている。

第3章では、収穫・冷凍保管後のワカメ、コンブ、ツルアラメおよびテングサという4種の海藻類を対象にして、淡水中の重金属の吸着特性を比較し淡水中の重金属の除去特性と吸着材としての海藻類の適用可能性について検討した。その結果、重金属の吸着能は $ワカメ \geq コンブ \geq ツルアラメ > テングサ$ の順であり、重金属濃度 100 mg/l で Pb は 93~99% 程度が吸着し、 Cu と Cd は 70~80% 程度が吸着することが分かった。特に、ワカメの重金属吸着は Cu, Cd および Zn よりも Pb に対して大きな吸着親和度が現われることも分かった。また、ワカメの重金属に対する吸着効率は、多成分の重金属に対するよりも単成分の方がより高く、脱着材として NTA (ニトリロ三酢酸) 処理した場合に吸着される重金属の脱着効率が最も高くなることも分かった。さらに、ワカメをリサイクル的に繰り返し使用しても、ほとんど吸着特性が低下しないことも確認された。このように4種類の海藻における重金属の吸着特性を利用することで高効率で重金属の除去および回収ができることを明らかにした。一般に水生植物(特に抽水植物の葦「ヨシ」やハス)は、それ自身が有機物を除去することはないが、植物体の存在により微生物量が増え、有機物が無機化されて、それを植物が吸収することにより、窒素やリンが除去されると考えられている。

第4章では、水生植物(特に抽水植物)による水質改善効果に着目し、ヨシと同様に水質改善効果が期待されながら、現在までほとんど研究例がなく、一般に栽培の容易なハスに注目し、ペプトンを用いて人工的に汚濁状態を設定し栄養塩類(窒素およびリン)の除去効果に関する基本的な水質改善研究を行い、ハスを生活雑排水の一次処理に活用できる可能性について考察した。ハスのある人工汚濁水槽において水中の全窒素(T-N)は、概ね 95% 以上で除去され、水中の全リン(T-P)も約 80% 除去されることが明らかになった。ハス体内の全窒素含有量は、水が汚濁された直後と成長期にハス体内の全窒素

の含有量も大きく増加に転じ、ハスの生育も旺盛になることが分かった。一方、ハス体内の全リン含有量の変化は、ペプトンを加えた直後に高い全リン含有量を示したが、ハスの旺盛な成長が見られた時期から急激に全リン含有量が低くなっている。これはハスが成長を終えた段階で、それ以上リンが利用されなくなったと考えられる。ハスが萎れ枯れる始めると、一部汚濁物質 (T-N) が土壌中に取り込まれることも確認されたが、ハスによる水質改善(特に T-N の除去)が可能であることを明らかにした。さらに、水質関連指標に対する主成分分析の結果、水質改善効果を評価するための主要な関連要因を集約し、あいまい性や複雑な要因を考慮しファジィ C-means 法を導入することで、T-N や T-P の代替指標として計測の容易な電気伝導度と一定の関連性を見出すことができた。本研究では、生物的環境浄化機能に着目し水質環境の改善における微生物や収穫後の海藻類および水生植物などの利用可能性について、主に定性的な観点から考察を行った。特に、重金属の耐性を持つセレウス菌の吸着特性を活用して複合重金属の水質改善に利用できることや、コンブ、ツルアラメ、テングサおよびワカメなど4種類の海藻における重金属の吸着特性を利用して高効率で重金属の除去および回収ができることを明らかにした。また、水生植物(ハス)は、全窒素と全リンに対して高い水質改善効果を持ち、富栄養化などの水質汚濁に対する定性的な改善特性を明らかにすることができた。このように、限定された研究材料ではあるが、微生物から生体までの総合的な観点において、それぞれの特徴・機能を活かした基礎的な水質改善方法を提示することができたと考えられる。

本研究で提示した全ての生物的水質改善方法は、緑地環境科学分野における環境改善技術に有用な知見であり、将来的に閉鎖的な水域における水質改善の実用化や生物による総合的な水質改善プラントの設計に資するものである。本研究成果は、水質改善技術を通して緑地環境科学領域の発展に大きく寄与するものと考えられる。よって、最終試験の結果と併せて、博士(緑地環境科学)の学位を授与することを適当と認める。