

機関番号：14501
研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2009～2010
課題番号：21780177
研究課題名 (和文) 海洋生物由来成分を用いた新規バラスト水処理法の開発とその有用性の検証
研究課題名 (英文) Development of ballast water treatment system using the material from marine organisms
研究代表者
細井 祥子 (田辺 祥子) (Shoko Hosoi (Shoko Tanabe))
神戸大学・内海域環境教育研究センター・助教
研究者番号：80423226

研究成果の概要 (和文)：

大型船舶に積載されるバラスト水は、グローバルレベルでの生物越境移動の根源として問題視されている。そこで本研究では、低コストで環境負荷が少ない新たなバラスト処理技術の開発を目的として、産業廃棄物である貝殻由来成分を用いた凝集沈殿による有毒・有害微生物の除去法の確立を試みた。その結果、海水中のプランクトンを効率よく除去する手法として、ホタテ貝殻由来成分を凝集沈殿が有効である事が明らかとなった。

研究成果の概要 (英文)：

The ballast water loaded into the vessel is responsible for the movement of several organisms at the global level. In this study, we developed the novel and efficient ballast water treatment system by the flocculation precipitation method using the marine organisms. The developed system used the shell of scallop, which is industrial waste, removed several phytoplankton in the seawater efficiently with low cost and environmental load.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：バラスト処理技術、有害有毒微細藻類、赤潮、貝毒、越境移動、生物多様性、生態系攪乱

1. 研究開始当初の背景

近年、猛毒を生産する有毒プランクトンや、赤潮を形成する有害プランクトンの分布域の拡大が、地球規模で懸念されている。この原因の一つとして最も問題視されているのが、船舶バラスト水である。大型国際船

舶は、荷物を積載していない時、船を安定させるために“バラスト”といわれる海水を船底に積載する。このバラスト水は、荷物を降ろした時に積み込まれ、到着した港で荷を積み際に捨てられる。バラスト水中には、多種多様な生物が含まれており、越境移動により世界各地で移入生物 (外来種)

として定着および繁殖した事例が多数報告されている。例えば、タスマニアのホバート湾では、日本とオーストラリアを航行する輸送船によって、日本原産のマヒトデが増殖してホタテ貝の養殖に深刻な影響を与えて問題になった。このような生物の移入繁殖は、生態系攪乱、病原細菌の蔓延、有害・有毒プランクトンによる赤潮・貝毒の多発など、様々な危険性および問題を引き起こす可能性があり、効率的な越境移動防止対策をとることが必要となっている。そのため、国際海事機関（International Maritime Organization: IMO）において、バラスト水の管理のための包括的な条約が採択され、この条約に従う形でバラスト水処理法の開発が、近年急速に研究されている（表1）。

しかしながら、バラスト水処理法の開発は急速に進んだが、バラスト水管理の条約における基準を満たし、その効果が科学的に検証された手法はこれまでに存在しない。この原因として、開発された手法のコストの大きさや、生物除去処理能力の限界の問題が考えられている。また、これまでの開発研究段階において、処理法を開発する工学技術的研究と、その生物除去効果を評価する生物学的研究のコラボレーションが少なく、手法の有用性の検証が甘かった事も原因の一つとして考えられる。

これらの問題点を解決するには、上記問題点を克服した「多くの生物を殺滅する」が「海洋環境汚染を起こさない」手法を開発し、さらに手法の有用性を生物学的見地から明らかにすることが重要である。

表1 これまでに開発されてきたバラスト水処理技術

処理法	具体的処理	問題点
物理的手法	ろ過および遠心分離	微小生物（細菌）への効果小 濾過の場合目詰まりによる効果減
化学的手法	化学薬剤（過酸化水素水等）の直接注入 ・UV照射	海洋環境汚染の問題 →バラスト水の寄港地での直接排出不可能
機械的手法	キャビテーション ・高圧処理	処理量大、設備設置のコスト大 微小生物（細菌およびウイルス）への経効力小
熱学的手法	・高熱（90℃以上）処理	処理量およびコスト大

2. 研究の目的

本研究においては、低コストで環境負荷が少ないバラスト処理ならびに、グローバルレベルでの海洋生態系の長期的持続を目的として、新規凝集沈澱剤を用いたバラスト処理システムの構築を行った。本研究において、構築するシステムは、国際海事機関の定めるバラスト水排出基準を（表2）を満たす非常に効率の良いものを目標とした。また、H22年度およびH23年度では、動物プランクトンおよび植物プランクトンのバラスト水からの除去を目的とした。

表2 IMOによるバラスト水排出基準

対象生物	基準	備考	
動物プランクトン	10 個体/・3 未満	外洋の 1/100 程度	
植物プランクトン	10 個体(細胞)/ml 未満		
細菌	コレラ菌	1 コロニー/100 ml 未満	海水浴場並み
	大腸菌	250 コロニー/100 ml 未満	
	腸球菌	100 コロニー/100 ml 未満	

3. 研究の方法

凝集沈澱剤は、工場排水処理からの重金属の除去や、土木工事において発生する濁水からの土壌粒子の連続除去処理にこれまで応用されてきた物質である（図1）。従来は、化学的物質が使用されているため、環境負荷が高い。

本研究においては、海洋環境中に存在する貝殻を焼成することにより凝集沈澱剤を作成し、作成した有毒・有害生物の除去に対する有用性を検証した。H22年度においては、まず顕微鏡ならびに分子生物学的手法の一つであるクローンライブラリー法にて、バラスト水中に含まれる生物を網羅的に同定した。次に、新規に開発した貝殻由来成分

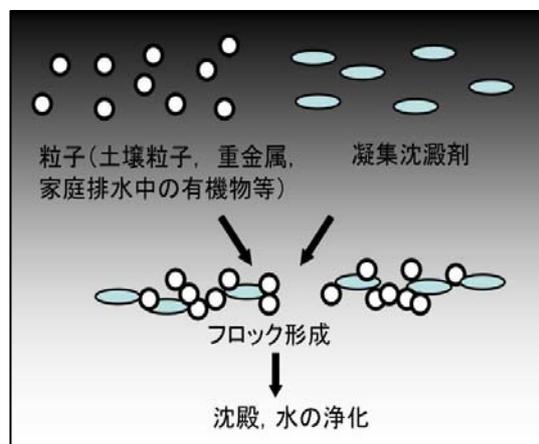


図1 沈澱剤による粒子除去のメカニズム

による沈澱法を用いて、これらの生物の除去を試みた。H23年度においては、H22年度の結果を元に、海水から生物を除去する最適プロトコルを探索し、国際海事機構の定めるバラスト水管理条約の定めるバラスト水排出の基準以下への処理の可能性を検討した。

4. 研究成果

①日本（姫路港）から中東（カタール）に航行する大型船舶のバラスト水ならびにバラスト沈澱物中のプランクトンの組成を調べた。

バラスト水サンプルは、バラスト水注入水時、バラスト水洋上交換直前、バラスト水洋上交換直後、およびバラスト水排出前に、バラストタンクから採取した。バラスト沈澱物は、バラスト水排出直後のものをサンプルとして採取した。顕微鏡を用いた観察ならびに真核生物ユニバーサル18S rDNAプライマーを用いたクローンライブラリー法を用いて、それぞれのサンプルに含まれるプランクトン組成を解析した。

顕微鏡観察の結果、日本から積載されるバラスト水中には、珪藻類が非常に多数含まれており、*Chaetoceros* sp. および *Skeletonema costatum* が優先していた。さらに、細胞数は多くないものの赤潮原因種 *Heterosigma akashiwo* および貝毒原因種 *Alexandrium tamarense* 等の有害有毒藻類が複数種含まれていることが明らかとなった。これら有害有害プランクトンが混入しているという結果は、クローンライブラリー法の結果からも支持された。バラスト水洋上交換前には、*Chaetoceros* sp. および *Skeletonema costatum* を除くプランクトンは、種、数ともに減少し、さらにバラスト水洋上交換後はさらに種、数ともに減少した。バラスト水洋上交換が、バラスト水中のプランクトンを減少させている事が明らかとなった。しかしながら、バラスト沈澱物中には、プランクトンの休眠細胞と見られる細胞が多数存在した。そこで、バラスト沈澱物を、藻類培地にて培養した結果、*Alexandrium* sp. と見られる細胞の増殖が観察された。これらの結果から、これまでも懸念されてきたが、日本からの大型船舶バラスト水には、多数の有害有害プランクトンが含まれており、その除去法の確立が急務である事が明らかとなった。

②新規に開発した貝殻由来成分による沈澱法を用いて、植物および動物プランクトンの除去を試みた。海水は、大型船舶の航行が多い神戸湾のものを用いて行った。その結果、凝集沈澱剤を海水に添加し、攪拌を行う事で

植物および動物プランクトンの沈澱ならびに除去が可能である事が明らかとなった。しかしながら、一部沈澱せずに海水中に残存する個体が見られた。とりわけ浮遊力のある動物プランクトンの残存率が高かった。

③②の結果で明らかとなった残存する動物および植物プランクトンの除去法を探索した結果 pH を調整するヘルパーとなる物質の微量添加が効果的である事が明らかとなった（図2）。

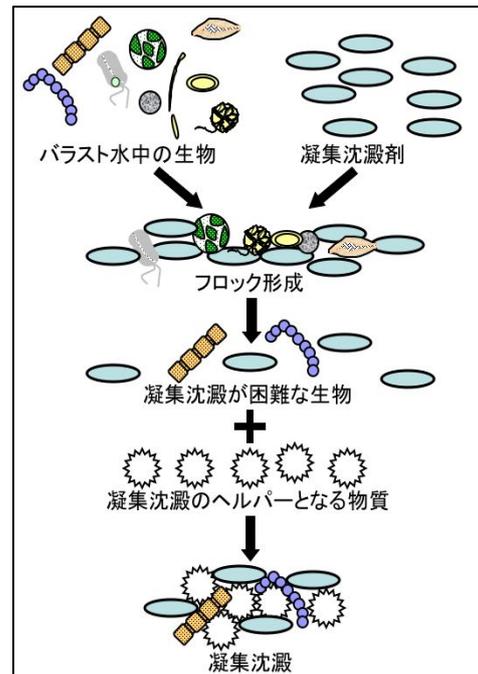


図2 ヘルパーとなる物質を用いた凝集沈澱

④凝集沈澱剤およびヘルパーを用いたプランクトン除去のプロトコルの確立を、神戸港の海水 100ml を用いて行った。その結果、100ml の海水に対して 3g 以上の凝集沈澱剤および 100 μl のヘルパーの添加で、海水中のプランクトンをすべて除去可能であった（図3）。この結果から、確立したプロトコルは、国際海事機構の定める条件をみたすことが明らかとなった。今後は、実際の船における応用に関する実験を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計5件）

1. Yin A., Li H., Liu Z., Ban S., Tanabe S., Hosoi M. 2010. SYBR Green real-time fluorescence quantitative PCR detection of *Prorocentrum lima*.

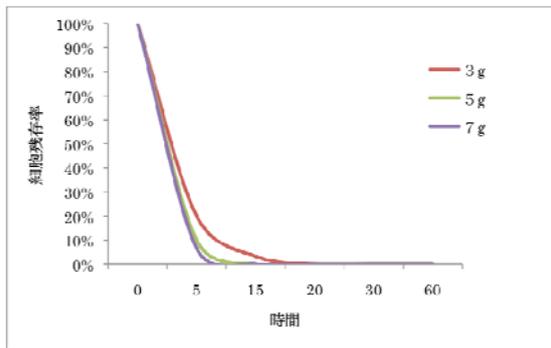


図3 凝集沈澱剤およびヘルパーによる凝集沈澱の効果。実験に供した初期のプランクトン細胞数を100%とし、細胞の残存率を示した。凝集沈澱剤の添加は、3、5、7g、ヘルパーの添加は100 μ lである。

2. Zhang H., Hosoi-Tanabe S., Nagata S., Ban S. and Imura S. 2010. *Psychroflexus lacisalsi* sp. nov., a moderate halophilic bacterium isolated from a hypersaline lake (Hunazoko-Ike) in Antarctica. *J. Microbiol.* **48**: 160-164 (査読有り).
3. Hosoi-Tanabe S., Zhang H., Zhu D., Nagata S., Ban S. and Imura S. 2010. Comprehensive Analysis of an Antarctic Bacterial Community with the Adaptability of Growth at Higher Temperatures than those in Antarctica. *Biocontrol Science* 15:57-62 (査読有り).
4. Osman O., Yaniguchi, H., Ikeda K., Park P., Y. Q., Zhu D., Hosoi-Tanabe S. and Nagata S. 2009. Copper-resistant halophilic bacterium isolated from the polluted Maruit Lake, Egypt. *J. Appl. Microbiol.* 108:1459-1470 (査読有り).
5. Nunoura, T., Oida, H., Nakaseama, M., Kosaka, A., Ohkubo, S., Kikuchi, T., Kazama, H., Hosoi-Tanabe, S., Nakamura, K., Kinoshita, M., Hirayama, H., Inagaki, F., Tsunogai, U., Ishibashi, J., Takai, K. 2009. Archaeal diversity and distribution along thermal and geochemical gradients in hydrothermal sediments at the Yonaguni Knoll IV, the Southern Okinawa Trough. *Appl. Environ. Microbiol.* 76:1198-1211 (査読有り)

[学会発表] (計 8件)

1. Tanabe S., Izuhara Y., Hosoi M. Development of effective use of massive jellyfish (*Aurelia aurita*) in the Japanese coastal area. ASLO 2011 Aquatic Sciences Meeting, 13-18 February, 2011. San Juan, Puerto Rico, USA.
2. Tanabe S., Izuhara Y., Hosoi M. Examination of effective use of jellyfish (*Aurelia aurita*) generated in large quantities in the Japanese coastal area. IMBC2010, 8-12 October, 2010. Qingdao, China
3. Omneya Osman, Shoko Tanabe-Hosoi and Shinichi Nagata. Characterization of the plasmids, pMA21 and pMA22, isolated from moderately halophilic bacteria *Halomonas* sp. strain MA2. Proceedings of the 9th International Marine Biotechnology conference, Qingdao, China, October, 2010.
4. 田辺 祥子・細井 公富・伴 修平・朴 虎東・李 洪武「水産養殖用稚魚を介した中国からの有毒・有害プランクトンの越境移入の可能性」第33回日本藻類学会大会. 沖縄. 2009年3月25-29日.
5. 田辺祥子・豊原治彦・大橋友隆「海洋生物由来成分を用いた凝集沈澱によるバラスト水中の有害・有毒プランクトン除去の試み」平成21年日本水産学会春季春季大会. 東京. 2009年3月27-31日.
6. 田辺 祥子・細井 公富・伴 修平・朴 虎東・李 洪武「水産養殖用稚魚を介した中国からの有毒・有害プランクトンの越境移入の可能性」平成21年度日本水産学会秋季大会
7. Shoko Tanabe, Masatomi Hosoi, Ho-Dong Park, Hong-wu Lee, and Syuhe Ban. The possibility that harmful algal species invade the Japanese fish farms through the fly imported from (Hainan Island). 6th International workshop on targeted HAB species in the East Asia Waters. Tokyo, 2009. 11.20-21
8. 田辺祥子・細井公富・朴虎東・李洪武・伴修平「水産養殖用稚魚を介した中国からの有毒・有害プランクトンの越境移入」2009年度日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会 北海道 2009年10月16-18日.

[図書] (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/rcis-kurcis/>

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/rcis-cobio/>

<http://kuid.ofc.kobe-u.ac.jp/InfoSearch/Detail.do?dbid=1&recordnumber=oHA8HMAaNQz0%2BIBQ3mbe3w%3D%3D>

<http://www.maritime.kobe-u.ac.jp/professors/tanabe.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細井祥子 (田辺祥子)
(Shoko Hosoi (Shoko Tanabe))

神戸大学・内海域環境教育研究センター・
助教

研究者番号：80423226