

Environment Research and Technology Development Fund

環境省環境研究総合推進費終了研究等成果報告書

水草バイオマスの持続可能な収穫と利活用による湖沼生態系保全技術の確立
(4-1406)

平成26年度～平成28年度

Novel Lake Ecosystem Management by Sustainable Harvesting and Effective Utilization
of Aquatic Weed Biomass

滋賀県立大学
国立研究開発法人国立環境研究所
創価大学
滋賀県琵琶湖環境科学研究センター

〈研究協力機関〉
滋賀県立琵琶湖博物館
神奈川県横浜市北部汚泥資源化センター
東京都八王子市北野下水処理場
株式会社伊吹正

平成29年5月

環境省
総合環境政策局総務課環境研究技術室
環境保健部環境安全課環境リスク評価室
地球環境局総務課研究調査室

水草バイオマスの持続可能な収穫と利活用による湖沼生態系保全技術の確立

(4-1406)

I. 成果の概要	i
1. はじめに (研究背景等)		
2. 研究開発目的		
3. 研究開発の方法		
4. 結果及び考察		
5. 本研究により得られた主な成果		
6. 研究成果の主な発表状況		
7. 研究者略歴		
II. 成果の詳細		
(1) 水域生態系を健全に保つための持続可能な水草収穫量の推定 (滋賀県琵琶湖環境科学研究センター)	1
要旨	1
1. はじめに	2
2. 研究開発目的	2
3. 研究開発方法	2
4. 結果及び考察	8
5. 本研究により得られた成果	24
6. 国際共同研究等の状況	25
7. 研究成果の発表状況	25
8. 引用文献	26
(2) 水草の刈り取りが湖沼の水質及び底質に与える影響の評価 (国立研究開発法人国立環境研究所)	28
要旨	28
1. はじめに	28
2. 研究開発目的	29
3. 研究開発方法	29
4. 結果及び考察	32
5. 本研究により得られた成果	40
6. 国際共同研究等の状況	41
7. 研究成果の発表状況	41
8. 引用文献	42
(3) 水草バイオマスの効率的な処理技術の確立 (創価大学)	43
要旨	43
1. はじめに	44
2. 研究開発目的	44
3. 研究開発方法	45
4. 結果及び考察	52
5. 本研究により得られた成果	59
6. 国際共同研究等の状況	60
7. 研究成果の発表状況	61
8. 引用文献	64

(4) 嫌気発酵液分残渣を用いた藻類大量培養技術の確立 (滋賀県立大学)	67
要旨	67
1. はじめに	68
2. 研究開発目的	68
3. 研究開発方法	69
4. 結果及び考察	73
5. 本研究により得られた成果	88
6. 国際共同研究等の状況	89
7. 研究成果の発表状況	90
8. 引用文献	92
III. 英文Abstract	93

課題名 4-1406 水草バイオマスの持続可能な収穫と利活用による湖沼生態系保全技術の確立

課題代表者名 伴 修平（滋賀県立大学環境科学部環境生態学科 教授）

研究実施期間 平成26～28年度

累計予算額 平成26～28年度累計予算額 118,782,966円（うち平成28年度：34,928,949円）
予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード 沈水植物、持続的利用、湖沼生態系保全、生物多様性、メタン発酵、発酵消化液、微細藻類培養、琵琶湖

研究体制

- (1) 水域生態系を健全に保つための持続可能な水草収穫量の推定（滋賀県琵琶湖環境科学研究センター）
- (2) 水草の刈り取りが湖沼の水質及び底質に与える影響の評価（国立研究開発法人国立環境研究所）
- (3) 水草バイオマスの効率的な処理技術の確立（創価大学）
- (4) 嫌気発酵液分残渣を用いた藻類大量培養技術の確立（滋賀県立大学）

研究協力機関

滋賀県立琵琶湖博物館
神奈川県横浜市北部汚泥資源化センター
東京都八王子市北野下水処理場
株式会社伊吹正

研究概要

1. はじめに（研究背景等）

近年、日本各地の陸水域では水草の大量繁茂による環境悪化が懸念されている。例えば、琵琶湖においては水草の分布が南湖の90%を覆うに至っており、社会・経済にわたる複合的環境問題を引き起こし（漁業活動への影響、周辺住民への悪臭被害、景観悪化によるツーリズムへの影響など）、各種検討委員会による環境モニタリング等が実施されている。

琵琶湖では国及び自治体の環境政策として緊急な対処が必要とされており、環境省の「湖沼水質保全計画」ならびに滋賀県の「マザーレイク21計画」において、「水草の除去および繁茂抑制方法の検討」が掲げられている。また、水草は主に湖底泥と共に根こそぎ除去されているが、これが底泥からのヒ素等重金属の溶出を促進する可能性が懸念される。一方で、水草は水質浄化や魚類の産卵場などの役割を担っているため、生態系保全の観点から、健全な湖沼生態系には適度な水草の繁茂が必要と考えられる。

除去された水草については、過去には肥料として農地利用されていたが現在では利用先がなく、主に堆肥化および焼却処理されている。水草バイオマスの再資源化についてはバイオエタノール化が検討されてきたが、エネルギー回収効率や費用の観点から未だ社会実装化には至っていない。最も安価な処理方法はメタン発酵によるバイオガス化だが、これまでは基質中の炭素分からのエネルギー回収のみが注目されてきた。

2. 研究開発目的

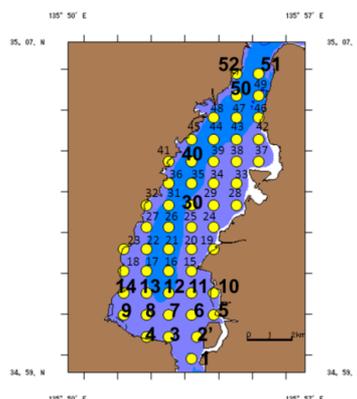
本研究では、1) 湖沼生態系に配慮した適正な水草量を明らかにし、そして、2) 除去した水草を効率的に処理し、循環利用するための基盤技術の確立を目指した。1) については、琵琶湖南湖における網羅的野外調査および大規模野外実験によって、水草の除去およびその方法が、水草周辺に生息する生物の群集構造、水質、および底質に与える影響について調べ、湖沼生態系の保全に配慮した水草の持続可能な管理基準について検討した。そして、2) については、メタン発酵処理によって、水草バイオマスを高効率でメタン変換するための技術開発を行った。加えて、微細藻類培養を通して、発酵液分残渣中に含まれる窒素やリンなど栄養塩の循環利用にかかる基盤技術を確立した。

3. 研究開発の方法

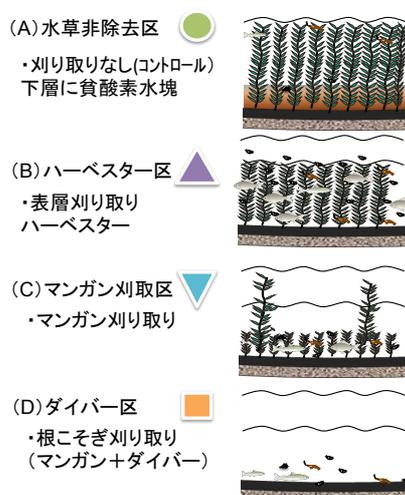
(1) 水域生態系を健全に保つための持続可能な水草収穫量の推定(滋賀県琵琶湖環境科学研究センター)

水草(沈水植物)の現存量は図(1)-1に示す52定点において、コドラート法にて定量採集を行い、水柱に水草が占める容積割合(PVI:Percentage Volume Infestation)を算出した。水草現存量は、2002年から月1回の頻度で魚群探知機を用いて水草高を測定した後、換算式によって求めた。年間最大水草高を当該年度初めに予測するため、環境パラメータと水草高の関係を調べ、5月の水温、透明度、リン酸塩濃度、そして水草高を用いて推定するモデル式を作成した。

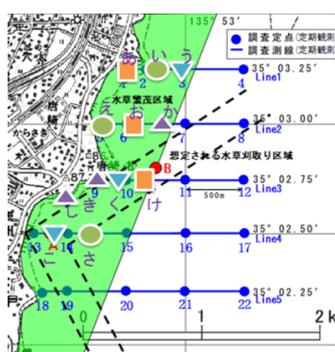
健全な生態系を保全する観点から、管理基準となる「適正な水草量」を得るため、水草刈り取り量および方法の異なる大規模野外実験を行った(図(1)-2)。琵琶湖南湖西岸唐崎～際川沖(図(1)-3)に4処理区(それぞれの処理区に3定点)合計12定点(St.あ～し)を設置した。各処理区の定点は、250 m以上の間隔をとり、沖側、岸側の差がないように配慮した。



図(1)-1 琵琶湖南湖水草現存量調査地点



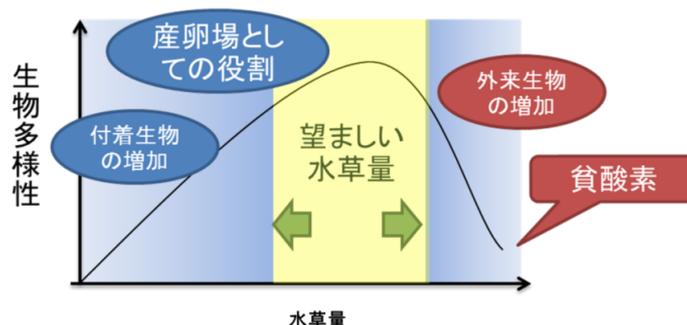
図(1)-2 大規模野外実験区における水草非除去区(A)と除去区(B,C,D)



図(1)-3 大規模野外実験区の設置エリア。A) 水草非除去区: St.い、え、か; B) ハーベスター区: St.か、き、し;
 C) マンガン刈取区: St.う、く、こ; D) ダイバー区: St.あ、お、け

野外大規模実験では、2015年4月25日～10月14日の期間、4処理区(水草非除去区、ハーベスター区、マンガン刈取区、ダイバー区)のそれぞれの水草現存量が維持されるように(図(1)-2)、定期的に水草の除去を行った。各処理区でのサンプリングは、4月～10月に行い、水草量、PVI、底層の流向流速、湖底直上の溶存酸素濃度(底層DO)、水草付着生物、底生動物、動物プランクトン組成について調査した。また、底層DOの連続測定を行うための係留系を設置した。水草除去による水草種組成の変化を明らかにするための追加実験は、2016年6～8月にSt.か、く、さにおいて、それぞれ5 m x 5 mの水草除去区とコントロール区を設置し、ダイバーによる水草種毎の被度を調査した。

水草量は、多すぎると湖水の停滞を招き、湖底の貧酸素化を促す。一方、水草が少ないと、魚介類の産卵場や仔稚の隠れ場が減り、水草の付着生物やそれを餌とする動物の生息場が減少するため、水草周辺の生物多様性は低下傾向となるだろう。即ち、生物多様性と底層DOを指標として「適正な水草量」を推定することができる(図(1)-4)。琵琶湖南湖で実施した網羅的観測の結果を利用し、水草PVIと底層DOおよび付着動物の種数の関係から、「適正な水草量」を推定した。



図(1)-4 水草量と生物多様性の関係のイメージ図

(2) 水草の刈り取りが湖沼の水質及び底質に与える影響の評価(国立研究開発法人国立環境研究所)

琵琶湖南湖において、水草の刈り取り影響を調査するため、毎年、マンガンによる水草刈り取りが実施されてきた水域(マンガン刈り取り区)と実施されてこなかった水域(コントロール区)で底泥コア採取を行った。これら底泥間隙水の水質を比較することで、マンガン刈り取りが底泥からの金属イオン等の溶出フラックスに与える影響を評価した。

採取した底泥コアは冷蔵保存で実験室に持ち帰り分析に供した。持ち帰った底泥コアは窒素雰囲気下で、深度ごとに切り分け、間隙水を抽出し、各種水質分析に供した。実施した水質分析項目は以下の4種類である。ただし、水質項目2)と4)に関しては、野外で採取した底泥コアに加えて、以下に記述する底泥コア培養実験(嫌気1週間培養と微好気⇄好気切り替え実験)の湖底直上水に関しても行った。

- 1) 間隙水の酸化還元電位(ORP)とpH
- 2) 各種イオン成分の濃度(アニオン: SO_4^{2-} , NO_3^- , PO_4^{3-} ; カチオン: NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ほか)
- 3) 溶存有機物の平均分子量
- 4) 各種溶存金属イオンの濃度

pHとORPは抽出直後に測定し、各種イオン成分濃度はDionex IC25 Ion Chromatographにより測定した。サイズ排除クロマトグラフィーによる溶存有機物の平均分子量は、島津製作所製HPLCシステムに自作の全有機体炭素(TOC)検出器を連結したTOC-SECシステムで測定した。各種金属イオン濃度の測定に関しては、誘導結合プラズマ発光分光分析(ICP-AES: 61E-Trace)およびICP-MS(Agilent 8800; Agilent)により、0.13Mの硝酸可溶成分を対象に行った。測定した金属イオン等の種類は、アルミニウム(Al)、カルシウム(Ca)、マグネシウム(Mg)、ストロンチウム(Sr)、鉄(Fe)、ケイ素(Si)、マンガン(Mn)、リン(P)、ヒ素(As)、銅(Cu)、イオウ(S)、亜鉛(Zn)の12種類である。

上記の測定・解析に加えて、貧酸素条件下での溶出試験を行った。底泥を密閉容器内に入れ、1週間静置培養することで、直上水中の溶存酸素が消費された際に各種金属イオンが溶出する速度を測定した。

底泥間隙水中の栄養塩や金属イオン等の濃度を測定し、堆積物表層付近における深度方向の濃度勾配を求めると、その増減から、これらイオン等の底泥からの溶出フラックスに関する知見を得ることができる。実際の拡散による溶出フラックスは下記の式により算出されるが、本サブテーマでは、マンガン刈り取り区とコントロール区における湖底泥表層付近の濃度勾配を2回の調査で比較することにより、刈り取り操作が好氣的環境下における拡散溶出フラックスにどのような影響を与えるか解析した。

$$\text{拡散フラックス} = \text{拡散係数} \times \text{含水率} \times \text{表層付近の濃度勾配}$$

一方、3.5か月間に及ぶ調査地周辺での底層DOのモニタリングから、水草帯における底層DOは2 ppm付近まで低下することが明らかとなった。貧酸素環境下では、鉄やマンガンといった金属イオンは顕著に溶出する性質があるため、先述したように無酸素条件下で直上水にどのような金属イオン等が集積するかによって、その溶出フラックスを解析した。

(3) 水草バイオマスの効率的な処理技術の確立(創価大学)

1) テーブル実験による各種水草類の嫌気発酵処理における前処理・発酵温度の検討

琵琶湖南湖において夏から秋の期間、約50%以上を占めるセンニンモは、メタン変換率が30%と低いため、易分解化が必要である。水草のリグニンはアルカリで開裂しやすいエステル結合を豊富に含むので、アルカリ脱リグニン処理によって効果的に易分解化・メタン変換率向上が可能である。また、このようなリグノセルロース系バイオマスの場合、メタン発酵プロセス前段の加水分解過程が発酵プロセスを律速するので、高温によるメタン生成速度の向上が期待できる。そこで、水草メタン発酵の高効率化を目指し、最適アルカリ前処理条件ならびに発酵温度について検討した。

2) 収穫する水草バイオマス種・量の変動を考慮にいたした年間プロセスの最適化

水草バイオマスからのメタン回収量の予測、ならびに実規模での回収可能なエネルギー量・処理コストの予測を可能にするため、琵琶湖南湖で優占する3種の水草(オオカナダモ、コカナダモ、センニンモ)の化学組成の季節変化とメタン生成量の関係を明らかにした。また、実規模での処理に向けて算定基準となる基礎データを得るため、共消化・半連続メタン発酵を実施した。まず、テーブル実験による基質混合比ならびに発酵温度を検討し、次に、ベンチスケールリアクター(200 L)による実証実験を実施し、メタン変換効率ならびに安定性を評価した。

3) バイオガスからのCO₂回収ならびにH₂S除去方法の検討

CO₂を重炭酸塩の形で高効率に溶存させて藻類に供給する「重炭酸型炭素固定微細藻類培養システム(BICCAPS)」の適用可能性を検討した。実証実験におけるH₂Sの発生量は、株式会社伊吹正の協力を得て測定した。また、新規生物脱硫システムの構築に向け、消化液で生育可能な硫酸化細菌群集の集積を行った。

4) 開発システムの環境影響および経済性評価

サブテーマ3および4で行った、メタン発酵とその消化液を利用した微細藻類培養システムに対する環境負荷低減への影響および経済性を評価するため、ライフサイクルアセスメント(LCA)評価とライフサイクルコスト(LCC)評価を実施し、現行処理法と比較した。

(4) 嫌気発酵液分残渣を用いた藻類大量培養技術の確立(滋賀県立大学)

水草を原料としたメタン発酵液分残渣(消化液)には、 $>1000 \text{ mg L}^{-1}$ のアンモニア態窒素が含まれており、これは微細藻類の増殖阻害物質である。本サブテーマでは、まず、コカナダモとオオカナダモのメタン発酵消化液について、異なる希釈倍率(10、25、50倍)の消化液にC培地を添加することで、アンモニア耐性の高い緑藻 *Chlorella sorokiniana*(クロレラ)の最適な消化液希釈率と不足する栄養素を明らかにした。培養の温度・光条件は、25°C、 $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、12D:12Lとし、振とう培養した。培養開始後、毎日1回、吸光度(OD)を測定し、藻類の増殖曲線を求めた。

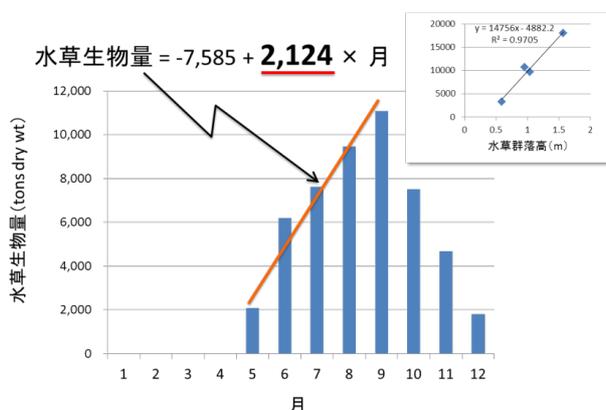
次に、水草と食品残渣を用いたメタン発酵消化液およびバイオガス中のCO₂を用いた、クロレラ大量培養の実証実験を行った。本実験では、合計5つの異なる実験を行った。即ち、1) Mg添加共消化液(水草+生ゴミ)実験、2) Mg未添加共消化液のpH調整実験、3) Mg添加単消化液(水草のみ)実験、4) Mg未添加単消化液のpH調整実験、5) 単消化液にバイオガスを循環する実験である。全ての実験は、10倍希釈の消化液を用いた。実験には、LED付きの10-Lフラットパネル型藻類培養リアクターを用い、5-10日の滞留時間(HRT)で、クロレラを連続培養し、藻体収量を求めた。藻類サンプルは1-2日毎に採取し、細胞数密度を測定した後、乾重量として藻体収量を測定した。消化液の栄養塩(NH₄-NとPO₄-P)濃度を測定し、その除去率を求めた。これらによって、メタン発酵消化液を用いた微細藻類大量培養を事業化する際の基礎的知見を集め、これを検証した。

4. 結果及び考察

(1) 水域生態系を健全に保つための持続可能な水草収穫量の推定(滋賀県琵琶湖環境科学研究センター)

琵琶湖南湖の水草現存量は1936~2014年の期間、500~18,000 t dry-wtの範囲で大きく変動した。繁茂する水草の種類についてみると、1936年頃は水草丈の短いロゼット型の水草種が優占していたが、近年は外来種・在来種を問わず、枝分かれのある水草丈の高いタイプのセンニンモ(在来種)、コカナダモ(外来種)、クロモ(在来種)、オオカナダモ(外来種)、ホザキノフサモ(在来種)等が優占していた。いずれの種も繁殖期は夏から秋で

あり、過去10年間の琵琶湖南湖における水草総生物量を月毎の平均値でみると、5月から9月の間に明瞭な成長が認められ(図(1)-5)、その生産量はおよそ2,100 t dry-wt/月であると推定できた。10月以降、水草は流れ藻になるか、自然分解されるため実質的な成長は見られないため、南湖全域における水草の年間生産量は平均10,000 t dry-wtと推定できた。即ち、現在刈り取っている水草量(500-700 t dry-wt/年)は、この5-7%に過ぎない。従って、水草を天然資源とみなしたとき、現在のところ琵琶湖南湖は十分な資源量を有していると云える。

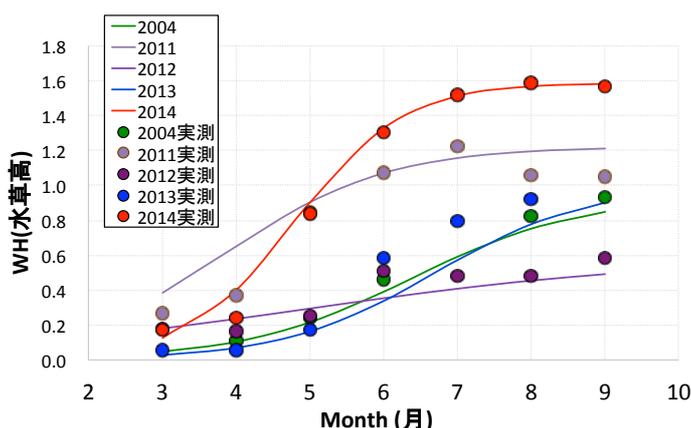


図(1)-5 2002~2012年の月別平均生物量から推定した琵琶湖南湖での水草成長速度。右上の挿入図は水草高と生物量が線形回帰することを示す。

年間最大水草高を推定するため、2004年および2011~14年の水草高(WH)をロジスティック成長式(1)に当てはめて予測モデル式を求めた。この成長式のパラメータと5月の水温、透明度、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度との関係より、各年の月別WHと年間最大WH(H_{\max})を推定した。その結果、WHの実測値と推定値の関係は $R^2=0.95$ であり、推定値は実測値をよく説明した。また、 H_{\max} についても推定値は高い精度で実測値を説明した($R^2=0.98$)。

$$WH = \frac{H_{\max}}{1 + e^{-g(t-\tau)}} \dots (1)$$

ここで、 g は成長率(定数)、 τ は遅れ時間(成長開始月)をそれぞれ示す。これらの結果は、当該年の最大水草高が、5月の3つの環境因子と水草高からモデル式によって予測可能であることを良く示した(図(1)-6)。

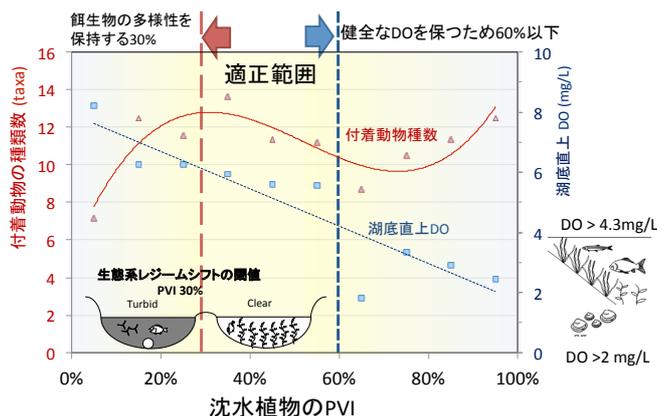


図(1)-6 ロジスティック成長式による予測成長曲線(実線)と実測値(シンボル)の関係

水草刈り取り量と方法の違いが生物群集に与える影響を評価するための大規模野外実験では、水草の種組成およびその季節変化が定点ごとに大きく異なり、処理区間で有意差を検証することができなかった。ただし、水草非除去区では、単一種が75%以上を占める現象が多くみられた。刈り取り・除去といった人為的な物理的作用によって、それまでの群集構造が攪乱され、空いたスペースに域外から新たに流れ込んだ水草種との間に競争が生じるため、刈り取り・除去をしない方が、単一群落を形成しやすくなる傾向が示唆された。そこで、2016年に水草除去区とコントロール区(非除去区)を比較する追加実験を行ったところ、コントロール区では水草優占種はいずれの処理区でも82%を上回った。

各処理区における底層DOは、水草量に差がみられる7月においてハーベスター区が最も高く、広い範囲で表層の水草を刈り取ることで、底層に酸素を供給する効果のあることが分かった。一方、同日のダイバー区およびマンガン刈取区は著しい貧酸素状態であった。各処理区における水草の付着藻類、付着動物、底生動物、動物プランクトンの種組成を調査したところ、付着動物種数は、水草量に依存して増加する傾向がみられた。

これら観測および実験結果より、琵琶湖南湖における「適正な水草量」について検討した。図(1)-1に示した52地点における調査時の水草PVIと付着動物種数および底層DOの関係を図(1)-7に示した。水草PVIが60%以上になると底層DOは4 mg/L以下に低下した。これは魚類の生息に望ましいDO(4.3 mg/L)を下回るものである。付着動物種数は、水草PVIが30%までは増加するが、それ以上だと減少傾向に転じた。このPVIは生態系レジームシフトで湖水が濁った系に移行する閾値に良く一致していた。そこで、多様度が高く、底層DOが低下しないPVI30-60%が「適正な水草量」と定義することができた。即ち、水草量を管理するとき、種多様性と底層DOは良い指標として利用することができ、湖沼毎に適正に管理することが可能であることを示すことができた。

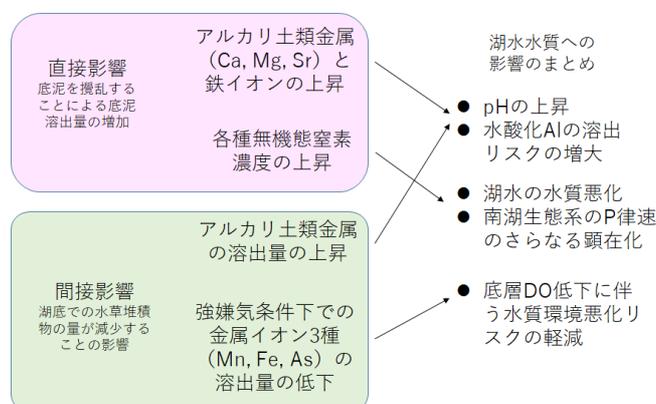


図(1)-7 水柱に水草が占める容積割合(PVI)と湖底直上溶存酸素量(DO:□)および付着動物種数(△)の関係(各値は水草PVIを10%毎に平均した値を用いた)

(2) 水草の刈り取りが湖沼の水質及び底質に与える影響の評価(独立行政法人国立環境研究所)

1) 水草刈り取りが底泥から湖水への栄養塩や各種金属イオン等の溶出に与える影響

水草の刈り取り影響は、1) 刈り取り時の底泥巻き上げの影響(直接影響)と、2) 刈り取ることによる湖底の水草堆積物量の低下が底泥からの溶出に及ぼす影響(間接影響)に分けて調べた。1) 直接影響に関しては、高濃度のアルカリ土類金属と鉄(Fe)イオンそして各種無機態窒素が湖水柱に放出され、濃度を一時的に高める可能性があることが分かった。一方、2) 間接影響に関しては、水草堆積物の少ない刈り取り区では、分解が進み、pHが低下しやすく、底泥間隙水中に高濃度で蓄積するため、アルカリ土類金属の底泥からの溶出は促進されやすいことが明らかとなった。このことから、水草刈り取りは直接・間接影響ともに湖水柱のアルカリ土類金属濃度を上昇させることにつながると結論付けることができた(図(2)-1)。一方、底泥表層が嫌気になった場合には、水草刈り取りによる間接効果は、マンガン(Mn)、鉄(Fe)、ヒ素(As)イオンの底泥からの溶出を抑制することが明らかとなった。以上の結果をまとめると、図(2)-1のようになる。



図(2)-1 水草刈り取りの湖水水質への影響のまとめ

これによると、水草刈り取りが湖水水質に与える影響としては、アルカリ土類金属の濃度上昇が最も危惧される。アルカリ土類金属は自然界に比較的高濃度で存在し、毒性もほとんどないと考えられるが、その濃度上昇は湖

水のアルカリ度を増加させることから、pHを上昇させることになる。一方、嫌気環境下で溶出するMn、Fe、Asイオンの溶出量は、刈り取り区で軽減されることが示唆された。実際に、琵琶湖南湖の水草帯の湖底付近は貧酸素になることがあるので、水草の刈り取りは水質悪化のリスクを低減する効果を持つことが分かる。

2) 湖水水質への悪影響を抑えた最適な水草刈り取り方法についての提言

水草を刈り取ることは、湖水の循環を促進し、長期的には貧酸素となるリスクを低減することから、湖水環境を維持するために必要なことと思われる。上述した水草刈り取りの湖水水質への影響の解析結果から、刈り取り時の底泥巻き上げは溶存鉄やアルカリ土類金属を湖水柱へ放出することになり、水質環境の観点から望ましくないことが分かった。即ち、刈り取り量が同じなら、湖底を直接採集器具で攪乱しないハーベスターによる表層刈り取りがマンガン刈り取りより優れた方法と言える。しかしながら、ハーベスターでも、水草の上部を巻き取るように採取する際に、水草下部や底泥中の植物体に力が伝わり、底泥攪乱につながるようなことが頻繁にあるのなら、採集方法改善の余地は大きい。

原理的には水草をある高さでカットした後、上部を回収するような水草刈り取り方法が最善であると思われる。今後はマンガン刈り取りからハーベスターによる刈り取りへと移行していくことが大切と考えられるが、水中で水草を過度に引き上げずにカットする技術の開発を同時に行っていくことが重要である。

(3) 水草バイオマスの効率的な処理技術の確立(創価大学)

1) テーブル実験による各種水草類の嫌気発酵処理における前処理・発酵温度の検討

水草のメタン発酵前処理法として最適なアルカリ条件は、「NaOH 0.1 g g-TS_{基質}⁻¹、80°C、3時間」であることを見出した。温度条件に関わらず約2か月後に微生物相が安定したことから、実規模での水草のメタン発酵時には、種汚泥を2か月間順養後に使用することで速やかな運転立ち上げが可能である。

メタン生成速度回復後の中温・無処理条件、中温・アルカリ処理条件、高温・無処理条件、高温・アルカリ処理条件における平均メタン変換率はそれぞれ28、46、50、51%であった。これらの結果より、中温条件におけるアルカリ処理の効果は高く、メタン生成量は約2倍に向上した。中温ならびに高温・アルカリ処理条件で比較すると、高温ではメタン生成速度の回復後、揮発性脂肪酸(VFA)の蓄積が見られた。消化液の微細藻類培養への利用を考慮すると、実規模リアクターでの処理はVFA濃度の低い中温発酵が適していることが分かる。

2) 収穫する水草バイオマス種・量の変動を考慮にいたった年間プロセスの最適化

オオカナダモとコカナダモのリグニン量は、9月から10月にかけて約3倍に増加した。一方で、センニンモのリグニン量には季節的な変化は見られなかった。二元配置分散分析の結果、水草のメタン生成量は種と季節の違いの両者に影響を受けることが明らかとなった($p < 0.01$)。しかし、異なる種間と異なる季節間におけるメタン生成量のばらつきは、変動係数でそれぞれ22-32%と7-13%となり、種の違いの方が、季節の違いよりもメタン生成量に大きく影響することが示された。以上より、水草のメタン生成量の推定には、水草の種組成を把握することが重要である。

基質混合比を検討した実験において、センニンモの割合が高い処理区間では、メタン変換率にほぼ差は見られなかった。一方、生ごみのみを基質とした場合、過剰な酸生成が起きやすいが、水草と混合することによりVFA濃度の最大値は低く抑えられた。生ごみを水草と共消化メタン発酵処理することにより、高いメタン生成が得られるだけでなく、安定した運転が可能であった。共消化における発酵温度をテーブル実験で検討した結果、平均メタン変換率は中温条件と高温条件で、それぞれ76と79%であり大きな差は見られなかった。本結果ならびに加温のコストを考慮し、ベンチスケールでの実証実験では中温条件を採用し安定性を評価することとした。

実証実験の結果、平均メタン変換率は共消化で76%、単消化で63%と高いメタン変換率であり、両条件共に本プロジェクトでの目標値60%を達成することができた。運転期間を通してメタン発酵は安定して行われ、投入基質量あたりのメタン生成量は、共消化時は44 L kg wet-weight⁻¹、単消化時は16 L kg wet-weight⁻¹であった。以上より、アルカリ処理後の混合水草と生ごみとの共消化・半連続メタン発酵は、①高いメタン変換率であったこと、②パフォーマンスが運転期間を通して安定していたこと、③投入基質量(湿重量)あたりのメタン生成量が単消化の約3倍になったことから、実用性が高いプロセスであることが示された。

3) バイオガスからのCO₂回収ならびにH₂S除去方法の検討

有効容積0.4 LのCO₂吸収塔と有効容積1 Lの培養槽で構成されるBICCAPSにおいて、CO₂供給量0.4 L d⁻¹で安定したCO₂回収と藻類バイオマス生産が可能であることが分かった。実証実験におけるH₂S発生量は、共消化時は約80 ppm、単消化時は約50 ppm(基質投入後3-12時間の最大値)であった。また、メタン発酵消化液で生育可能な硫黄酸化細菌群集の集積に成功した。

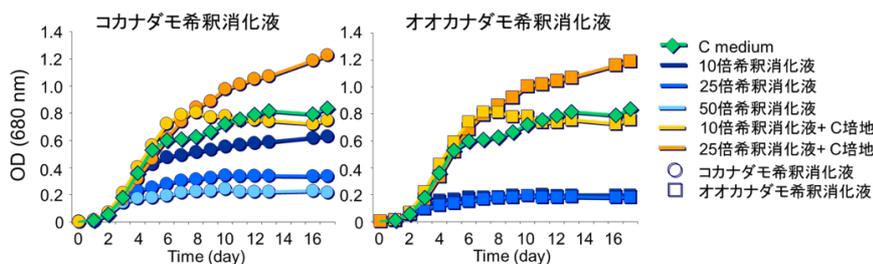
4) 開発システムの環境影響および経済性評価

得られた基礎データならびにメタン発酵消化液での微細藻類培養(サブテーマ4)を含めたライフサイクル分析の結果、現行の処理方法(堆肥化と焼却処理)に比べて、本研究で提案するメタン発酵処理と微細藻類生産に

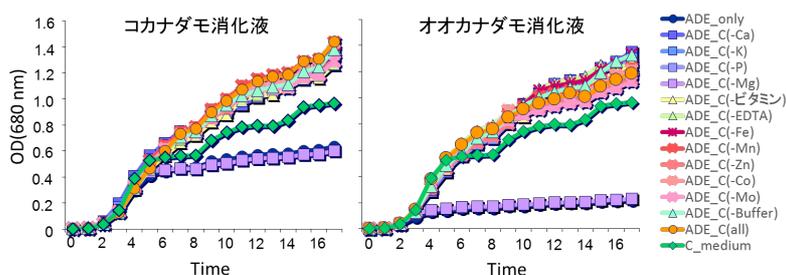
よる方法の優れていることが分かった。即ち、温室効果ガス排出量は約50%削減、かつ年間約6千万円の収益を見込むことができた。

(4) 嫌気発酵液分残渣を用いた藻類大量培養技術の確立 (滋賀県立大学)

メタン発酵消化液を使った培養実験では、クロレラの増殖は10倍希釈が最も高かったが、C培地で培養した場合に比べると低かった(図(4)-1)。一方、10倍希釈消化液にC培地成分を添加すると、その最終収量はC培地のときを上回った。これは、消化液中にクロレラの最大収量を得るために必要な栄養素が不足している事を示唆した。C培地の各成分について検討した結果、マグネシウム(Mg)のみが不足していることが明らかとなった(図(4)-2)。即ち、Mgさえ添加すれば、消化液を使ってクロレラを最大収量が得られるまで増やすことができる。



図(4)-1. 希釈消化液(10、25、50倍)およびC培地添加消化液(10、25倍)を用いた実験におけるクロレラの増殖曲線



図(4)-2. 1成分を除いたC培地添加消化液(10倍希釈)を用いた実験におけるクロレラの増殖曲線

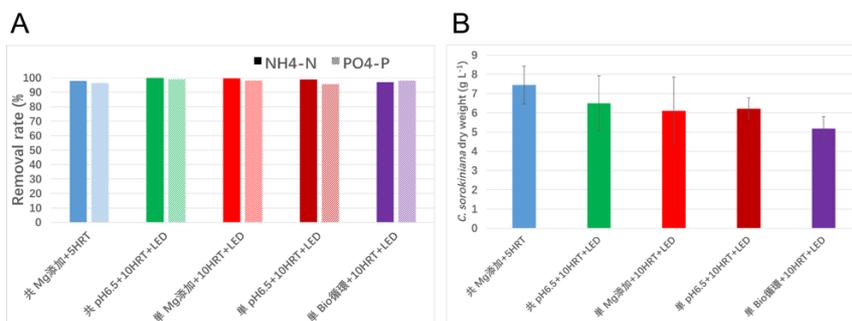
10-Lのフラットパネル型リアクターを使った実証実験においては、いずれの実験区においても平均藻類細胞数密度は、 $3-5 \times 10^7$ cells mL⁻¹に達したが、一般化線形モデルによると、ここで実験間にみられた変動要因は日積算光量であった(表(4)-1)。このことは、クロレラを屋外で培養する場合、日射量が低下する秋から冬には、照明が必要であることを示唆する。また、温度と日積算光量には交互作用が認められ(表(4)-1)、光量が藻類の成長に与える影響は、温度依存であることが分かる。

全ての実証実験において、NH₄-NとPO₄-Pの除去率は90%以上で(図(4)-3A)、藻体収量は、消化液1L当たり4.3-7.6 g dry weightを達成することができた(図(4)-3B)。これら収量は、共消化液と単消化液でほとんど同じだった(図(4)-3B)。バイオガスを消化液に通気した実験では、藻体収量は最も低かったが、これは冬期の低光量と低温のためであった(図(4)-3B)。

表(4)-1. 一般化線形モデル: 温度、pH、積算光量とそれらの相互作用がクロレラの細胞密度に与える影響

環境要因	Wald χ^2	d.f.	P値
温度	0.667	1	0.414
pH	0.133	1	0.716
積算光量	4.039	1	0.044
温度×pH	0.761	1	0.383
温度×積算光量	12.352	1	<0.001
pH×積算光量	-	-	-
温度×pH×積算光量	-	-	-

-: Unable to compute due to numerical problems



図(4)-3. (A)各実証実験における栄養塩(NH₄-N、PO₄-P)除去率(%),および(B)消化液1L当たりの藻類平均収量(g L⁻¹)

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

(1) 琵琶湖南湖における水草の成長は、ロジスティクス式で極めて良く説明できることが明らかとなり、その年変動は5月の水温、透明度、リン酸態リン濃度そして水草高で説明することができた。即ち、5月でのこれら3つの環境パラメータと水草高が分かれば、当該年における5月以降の水草成長を予測することが可能となった。さらに、付着動物の種数と湖底近傍の溶存酸素量が「適正な水草量」を策定する際に良い基準を提供することが分かり、これらを用いて、琵琶湖南湖における「適正な水草量」をPVIで30-60%であると示すことができた。これは、他の湖沼においてもこれらを用いることによって、水草の管理基準を策定できることを示す。

(2) 琵琶湖南湖における好氣的・嫌氣的環境下での金属イオン等の底泥からの溶出フラックスを評価した結果、刈り取り操作は水草帯で貧酸素水塊が出現した際には重金属類の溶出を抑制する働きがあり、湖水環境を改善する働きがあることが示唆された。一方、刈り取り時に底泥表層を攪乱した場合には、一時的にFeイオンやアルカリ土類金属類の底泥からの溶出量が増える可能性が示唆された。これらの結果より、湖底を水草採集器具で攪乱しないハーベスターによる表層刈り取りが優れた水草刈り取り方法として推奨された。

(3) これまで30%しか分解しなかった難分解性の水草(センニンモ)をアルカリ加熱処理により効率的に脱リグニンし、メタン変換率を大きく向上(約2倍)することができた。また、水草のメタン生成量は、季節よりも種組成の違いで決まること、つまり、種組成からメタン生成量が推定可能であることを明らかにした。

(4) アルカリ加熱処理後の水草と生ごみとの共消化メタン発酵は、①高いメタン変換率であったこと、②パフォーマンスが運転期間を通して安定していたこと、③投入湿重量あたりのメタン生成量が単消化の約3倍になることから、実用性の高いプロセスであることが示された。

(5) 本研究により、メタン発酵技術を用いた水草の資源化を社会実装するための、実規模における処理に向けた算定基準となる基礎データを得ることができた。これらのデータは実規模プラントにおいてバイオガスとして得られるエネルギー量や処理コストの算定に貢献できる。

(6) 水草を原料としたメタン発酵消化液には、豊富な栄養が含まれるが、アンモニア態窒素濃度が高いため(>1000 mg L⁻¹)、消化液は適当な濃度に希釈する必要がある。そして、藻類の最大収量を得るため、および高い栄養塩除去率を達成するためには、消化液に不足しているマグネシウム(Mg)を添加する必要があることが分かった。これは、即ち、Mgを添加するだけで消化液を使って微細藻類を潤沢に生産できることを示す。結局、10-Lリアクターを使った連続培養実験では、消化液1Lからクロレラを4.3-7.6 g dry-wt生産することができた。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

滋賀県琵琶湖政策課が主催する水草対策チーム会議において、本研究成果である適正な水草量、水草成長モデル、刈り取りによる水質・底質への影響を提供し、同課が水草対策の方針決定する際に貢献した。

<行政が活用することが見込まれる成果>

(1) 本研究成果で明らかになった水草刈り取り・除去に伴う湖沼生態系への影響および有効利用方法についての知見は、「琵琶湖の保全及び再生に関する法律(平成27年法律第75号)」に基づき定められた「琵琶湖の保全及び再生に関する基本方針」2. 琵琶湖保全再生施策に関する基本的な事項 二. 水草の除去等につい

て、滋賀県琵琶湖環境部琵琶湖政策課が対応する水草刈り取り・除去事業および水草等対策技術開発支援事業を実施する際に参考とされる。

(2)本研究は、水草および生ゴミをメタン発酵することにより得られた発酵消化液を用いて微細藻類を大量培養することで、天然バイオマス資源や食品残渣に含まれる栄養塩を微細藻類という有価物として回収するための基礎的技術を確立した。本技術は、有機廃棄物を資源として再利用することによって資源循環型社会を構築することに貢献でき、中央環境審議会が「環境研究・環境技術開発の推進戦略について」の答申で示した中長期的に目指す社会像を具現化する技術となる。また、滋賀県が掲げる「マザーレイク21計画」における、「効果的な水草の除去および繁茂抑制方法の検討」に貢献することができる。本技術は、日本の他の水域、そしてアジアやアフリカ等、世界各地で問題となっている水草の過剰繁茂に対する効果的な処理方法として適応可能である。

(3)本研究で確立されたメタン発酵消化液を用いた微細藻類培養は、大気中から CO₂ を吸収するため、カーボンオフセットに寄与し、温暖化抑制策に貢献することができる。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) M. KOYAMA, S. YAMAMOTO, K. ISHIKAWA, S. BAN, T. TODA: Biochem. Eng. J., 99, 124-130 (2015)
“Enhancing anaerobic digestibility of lignin-rich submerged macrophyte using thermochemical pre-treatment”
- 2) 霜鳥孝一、今井章雄、高津文人、小松一弘、佐藤貴之、富岡典子、篠原隆一郎、三浦真吾、奥居紳也、桐山徳也、岡本高弘: 水環境学会誌, 40(1), 21-29(2017)
「湖沼における底泥酸素消費量測定法の開発と湖沼環境評価への応用」
- 3) M. KOYAMA, S. YAMAMOTO, K. ISHIKAWA, S. BAN, T. TODA: Chem. Eng. J., 311, 55-62 (2017)
“Inhibition of anaerobic digestion by dissolved lignin derived from alkaline pre-treatment of an aquatic macrophyte”
- 4) K. WATANABE, M. KOYAMA, J. UEDA, S. BAN, N. KUROSAWA, T. TODA: Anaerobe, 47, 8-17 (2017)
“Effect of operating temperature on anaerobic digestion of the Brazilian waterweed *Egeria densa* and its microbial community”
- 5) M. KOYAMA, K. WATANABE, S. YAMAMOTO, K. ISHIKAWA, S. BAN, T. TODA: Bioresour. Technol.
“Effect of alkaline pretreatment on mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of a submerged macrophyte: inhibition and recovery against dissolved lignin during semi-continuous operation”
(accepted)

<査読付論文に準ずる成果発表>

- 1) 山田剛史: 滋賀県立大学環境科学部 卒業論文(2015)
「水草のメタン発酵消化液から微細藻類を用いて栄養塩を効率的に除去する方法の検討」
- 2) 小山光彦: 創価大学大学院工学研究科 博士後期課程 学位論文(2016)
“ANAEROBIC DIGESTION OF SUBMERGED MACROPHYTES -BIOCHEMICAL APPROACH FOR ENHANCING THE METHANE PRODUCTION-”
- 3) 藤原正明: 創価大学工学部環境共生工学科 卒業論文(2016)
「琵琶湖南湖に優占する沈水植物のメタン発酵特性と化学組成の季節変化」
- 4) 関根睦実: 創価大学工学部環境共生工学科 卒業論文(2016)
「新規生物脱硫システムの構築に向けた硫黄酸化細菌の馴養」
- 5) 山田幸奈: 創価大学工学部環境共生工学科 卒業論文(2016)
「微細藻類 *Arthrospira platensis* を用いたアルカリ性・高炭酸塩培地によるCO₂回収プロセス」

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) H. Takee, S. Kimura-Sakai, S. Ban, M. Koyama and T. Toda: The 16th international symposium on river and lake environments, Chuncheon, Korea (2014)
“Algal growth characteristic in anaerobic digestion effluent of aquatic weeds”
- 2) M. Koyama, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban, and T. Toda: 5th International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Venice, Italy, 2014
“Anaerobic digestion of submerged macrophytes: biomethane potential, pre-treatment and the

drawback”

- 3) 小山光彦、渡邊啓子、黒沢則夫、山本修一、石川可奈子、伴修平、戸田龍樹：第49回水環境学会年会(2015)
「アルカリ処理を用いた沈水植物の中温/高温メタン発酵」
- 4) M. Koyama, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban, and T. Toda: 3rd International Conference on Solid Waste, Kowloon Tong, Hong Kong, 2015
“Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of submerged macrophytes: Effect of alkaline pre-treatment”
- 5) K. Watanabe, J. Ueda, M. Koyama, K. Ishikawa, S. Ban, N. Kurosawa and T. Toda: 3rd International Conference on Solid Waste, Kowloon Tong, Hong Kong, 2015
“Effect of operating temperature on anaerobic digestion of submerged macrophytes in microbial flora”
- 6) 渡邊啓子、上田純子、小山光彦、石川可奈子、伴修平、黒沢則夫、戸田龍樹：第26回廃棄物資源循環学会研究発表会(2015)
「オオカナダモをメタン発酵した際の温度の影響および微生物相の解析」
- 7) K. Ishikawa: UNESCO-IHPⅧ Theme3 International Scientific Symposium on Scientific, Technological and Policy Innovations for Improved Water Quality Monitoring in the Post-2015 SDGs Framework, Japan, 2015
“Ecological Regime Shift in the South Basin of Lake Biwa: focus on algal blooms and submerged macrophyte overgrowth”
- 8) 霜鳥孝一、今井章雄、高津文人、小松一弘、佐藤貴之、富岡典子、篠原隆一郎、三浦真吾、桐山徳也、岡本高弘：日本陸水学会第80回大会(2015)
「湖沼における底泥表層の酸素消費速度」
- 9) 木村成子、山田剛史、竹江紘世、伴修平、小山光彦、戸田龍樹：第49回水環境学会年会(2015)
「水草を原料としたメタン発酵消化液から微細藻類を用いて栄養塩を効率的に除去する条件の検討」
- 10) S. Kimura-Sakai, H. Takee, S. Ban, M. Koyama and T. Toda: 2015 ASLO Aquatic Science Meeting, Granada, Spain (2015)
“Anaerobic digestion of submerged macrophytes: biomethane potential, pre-treatment and the drawback”
- 11) 木村成子、山田剛史、伴修平、小山光彦、戸田龍樹、石川可奈子：第80回日本陸水学会(2015)
「緑藻 *Chlorella sorokiniana* を用いて水草を原料としたメタン発酵消化液から効率的に栄養塩を除去する条件の検討」
- 12) 霜鳥孝一、今井章雄、高津文人、小松一弘、佐藤貴之、富岡典子、篠原隆一郎、奥居紳也、桐山徳也、岡本高弘：第81回日本陸水学会(2016)
「湖沼における底泥酸素消費量とその変動特性」
- 13) 木村成子、山田剛史、伴修平、小山光彦、渡邊啓子、戸田龍樹、石川可奈子：第50回日本水環境学会年会(2016)
「水草を原料としたメタン発酵消化液から緑藻 *Chlorella sorokiniana* を用いて効率的に栄養塩を除去する条件の検討」
- 14) 小山光彦、山本修一、石川加奈子、伴修平、戸田龍樹：平成27年度廃棄物資源循環学会関東支部研究発表会(2016)
「沈水植物のメタン発酵処理におけるアルカリ処理の影響」
- 15) 渡邊啓子、小山光彦、石川可奈子、伴修平、黒沢則夫、戸田龍樹：第50回日本水環境学会年会(2016)
「水草の効率的なメタン発酵処理条件の検討ならびに微生物相の解析」
- 16) 岸正敏、山田幸奈、戸田龍樹：第50回日本水環境学会年会(2016)
「好アルカリ性微細藻類を用いたCO₂回収プロセスにおけるCO₂回収効率および炭素動態」
- 17) 山田幸奈、岸正敏、片山智代、戸田龍樹：日本藻類学会第40回大会(2016)
「微細藻類 *Arthrospira platensis* を用いたアルカリ性高炭酸塩培地によるCO₂回収プロセス」
- 18) K. Ishikawa, H. Haga, E. Inoue and S. Ban: World Lake Conference 16th, Indonesia, 2016
“The basis for guidelines control submerged macrophyte overgrowth to benefit ecosystem health and biodiversity”
- 19) T. Toda and S. Ban: XII International Scientific Research Congress (XII CIC), Santo Domingo, Dominican Republic, 2016 (**Invited Speaker**)
“Novel lake ecosystem management by sustainable harvesting and effective utilization of aquatic weed

biomass”

- 20) S. Ban, T. Toda, K. Ishikawa, A. Imai: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Novel lake ecosystem management by sustainable harvesting and effective utilization of aquatic macrophytes biomass; overview for the concept of our on-going project”
- 21) K. Ishikawa, H. Haga, E. Inoue and S. Ban: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Sustainable harvesting of submerged macrophytes to benefit ecosystem health and biodiversity”
- 22) A. Kohzu, A. Imai, K. Shimotori, T. Sato, K. Ishikawa, K. Komatsu, S. Ban: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Comparison in nutrient and mineral elution between sediment covered with and without macrophyte litter in Lake Biwa, Japan”
- 23) S. Kimura, S. Ban: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Effective nutrient removal from anaerobic digestion effluents of aquatic macrophytes using the green alga *Chlorella sorokiniana*”
- 24) T. Toda, M. Koyama, M. Fujiwara, S. Akizuki, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Biogasification potential of harvested submerged macrophytes”
- 25) K. Watanabe, M. Koyama, J. Ueda, K. Ishikawa, S. Ban, N. Kurosawa, T. Toda: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Anaerobic digestion of submerged macrophytes: alkaline pre-treatment enhances the methane conversion efficiency” (Poster)
- 26) T. Toda and S. Ban: 3rd International Postgraduate Conference on Biotechnology (IPCB 2016), Surabaya, Indonesia, 2016 (**Keynote Speech**)
“Creation of a recycling society – Novel lake ecosystem management by sustainable utilization of aquatic weed biomass”
- 27) M. Kishi, Y. Yamada, T. Katayama and T. Toda: 3rd International Postgraduate Conference on Biotechnology (IPCB 2016), Surabaya, Indonesia, 2016
“Two-phase bicarbonate-based CO₂ recovery system using *Arthrospira platensis*: recovery efficiencies and carbon mass flux”
- 28) H. Taira, M. Koyama, S. Akizuki, K. Ishikawa, S. Ban and T. Toda: 3rd International Postgraduate Conference on Biotechnology (IPCB 2016), Surabaya, Indonesia, 2016
“Anaerobic Digestion of Thermochemically Pre-treated Submerged Macrophyte under Mesophilic and Thermophilic Conditions”
- 29) M. Fujiwara, M. Koyama, S. Akizuki, K. Ishikawa, S. Ban and T. Toda: 3rd International Postgraduate Conference on Biotechnology (IPCB 2016), Surabaya, Indonesia, 2016
“Chemical Composition and Methane Yield of Submerged Macrophytes Harvested in Different Seasons from Lake Biwa, Japan” (Poster)
- 30) 藤原正明、小山光彦、秋月真一、渡邊啓子、石川可奈子、伴修平、戸田龍樹: 廃棄物資源循環学会 第27回 研究発表会(2016)
「琵琶湖に優占する各種沈水植物の異なる季節における化学組成およびメタン生成量」
- 31) M. Koyama, K. Watanabe, N. Kurosawa, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban and T. Toda: 2016 Seminar Workshop on the Utilization of Waste Materials (WoW), Philippines, 2016
“Effect of pre-treatment by-product on biomethane production from aquatic macrophytes.”
- 32) M. Kishi, Y. Yamada, T. Katayama, and T. Toda: Algal Biomass Summit. USA, 2016
“Semi-continuous operation of two-phase bicarbonate-based CO₂ recovery system using *Arthrospira platensis*: Recovery efficiencies and carbon mass flux.”
- 33) 渡邊啓子、小山光彦、石川可奈子、伴修平、黒沢則夫、戸田龍樹: 平成27年度廃棄物資源循環学会関東支部研究発表会(2016)
“Anaerobic digestion of submerged macrophytes *Potamogeton maackianus*: alkaline pre-treatment enhances the methane conversion efficiency” (ポスター発表)
- 34) 刘鑫、伴修平、藤原正明、戸田龍樹: 第51回日本水環境学会(2017)
「水草を用いた嫌気発酵液分残渣による微細藻類連続培養: Mg添加とpH調整」
- 35) 木村成子、山田剛史、刘鑫、伴修平、小山光彦、戸田龍樹: 第51回日本水環境学会(2017)
「メタン発酵消化液へのMg添加による微細藻類の増殖促進および栄養塩除去率の向上」

- 36) 石川可奈子・芳賀裕樹・井上栄壮・永田貴丸・岡本高弘・岩木真穂・伴修平：平成29年度日本水産学会春季大会(2017)
「ロジスティック曲線による沈水植物成長モデル」

7. 研究者略歴

課題代表者：伴 修平

北海道大学水産学部卒業、北海道大学大学院水産学研究科博士後期課程単位取得退学、博士(水産学)、北海道大学水産学部助手、滋賀県立大学助教授、現在、滋賀県立大学環境科学部教授

研究分担者

1) 石川 可奈子

北海道大学水産学部卒業、京都大学大学院農学研究科博士課程修了(農学博士)、現在、琵琶湖環境科学研究センター総合解析部門専門研究員

2) 今井 章雄

金沢大学工学部卒業、金沢大学大学院工学研究科修士課程修了、テキサス大学オースチン校博士課程修了(Ph.D)、現在、国立研究開発法人国立環境研究所地域環境研究センター長

3) 戸田 龍樹

北海道大学水産学部卒業、東京大学大学院農学系研究科博士課程修了(農学博士)、東京大学海洋研究所特別研究員(日本学術振興会)、創価大学工学部講師、現在、創価大学理工学部教授、創価大学大学院工学研究科長

4-1406 水草バイオマスの持続可能な収穫と利活用による湖沼生態系保全技術の確立

(1) 水域生態系を健全に保つための持続可能な水草収穫量の推定

滋賀県琵琶湖環境科学研究センター

総合解析部門

専門研究員 石川 可奈子

総合解析部門

主任研究員 井上 栄壮

総合解析部門

主任研究員 佐藤 祐一

研究協力者

滋賀県立琵琶湖博物館

総括学芸員 芳賀 裕樹

平成26(開始年度)～28年度累計予算額：12,796,000円（うち平成28年度：3,598,000円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

水域生態系を健全に保つための持続可能な水草収穫量を推定するため、琵琶湖南湖を対象として、水草の成長速度および水草現存量の季節変化および中長期的変化を調査し、年間最大水草量を推定するモデルを作成した。琵琶湖南湖の水草現存量は長期的にみると、1936年～2014年において500～18,000 t 乾燥重量 (dry-wt) の範囲で変動した。また、水草が急速に回復した過去20年間（1994年以降）に限定すると3,000～18,000 t dry-wtの範囲で変動したことが明らかになった。2002年以降10年間のモニタリングデータから季節変化をみると、5月から9月の間に明瞭な成長が認められ、この間の平均成長速度は2,100 t dry-wt/月であった。これら繁茂した水草は10月以降、流れ藻になるか自然分解されるため、現存量は衰退傾向となる。この結果は、琵琶湖南湖における水草の年間生産量が、10年間の平均でおおよそ10,000 t dry-wt/年であること、そして、現在、滋賀県が刈り取っている水草量（500-700 t dry-wt/年）はこの5-7%に過ぎないことを明らかにした。他方、滋賀県が水草の刈り取り・除去計画を推進する上で重要となる水草の年間最大量を推定するためのモデル式を求めた。即ち、年間最大水草量は、当該年5月の水草高、水温、透明度、 PO_4 -P濃度を用い、これをモデル式に当てはめることで精度よく推定できることが分かった。さらに、将来にわたり水草を持続可能な資源として有効利用する上で重要となる「適正な水草量」を求めるための管理基準として、付着動物種数と湖底直上溶存酸素濃度（底層D0）が有効であることを示すことができた。即ち、底層D0が魚介類の生息に支障なく、かつ水草周辺生物の多様性を保全するための「適正な水草量」は、琵琶湖南湖の場合、水草の水柱に占める容積割合（PVI）として30～60%程度が望ましい。

[キーワード]

沈水植物、水草管理基準、溶存酸素濃度、生物多様性、琵琶湖

1. はじめに

近年、日本各地の陸水域では水草の大量繁茂による環境悪化が懸念されている。例えば、琵琶湖においては水草の分布が南湖の90%を覆うに至っており、社会・経済にわたる複合的環境問題を引き起こし（漁業活動への影響、周辺住民への悪臭被害、景観悪化によるツーリズムへの影響など）、各種検討委員会による環境モニタリング等が実施されている。

琵琶湖では国及び自治体の環境政策として緊急な対処が必要とされており、環境省の「湖沼水質保全計画」ならびに滋賀県の「マザーレイク21計画」において、「水草の除去および繁茂抑制方法の検討」が掲げられている。現在、滋賀県では大量繁茂した水草を管理するため、年間2億円以上の予算を費やし、沖帯では根こそぎ除去、沿岸では水草刈取り船による表層刈取りを実施している。しかし、これらの方法は対処療法的であり、水草の生態学的役割や水草除去に伴う環境への影響についてはほとんど考慮されていない。水草は水質浄化や魚類の産卵場などの役割を担っているため、生態系保全の観点から、健全な湖沼生態系には適度な水草の繁茂が必要と考えられる。

2. 研究開発目的

本研究では、水域生態系を健全に保つための持続可能な水草収穫量を推定するため、水草群集の中長期的変遷、種組成と現存量の時空間変動を調査し、水草除去とその方法がそこに生息する生物群集に及ぼす影響について評価した。琵琶湖を事例として水草の持続可能な管理基準について検討し、その基準を用いて、水域生態系を保全するために必要な水草現存量、即ち「適正な水草量」の推定を試みた。

3. 研究開発方法

(1) 水草の成長速度の推定

1) 水草現存量の調査と中長期的変化

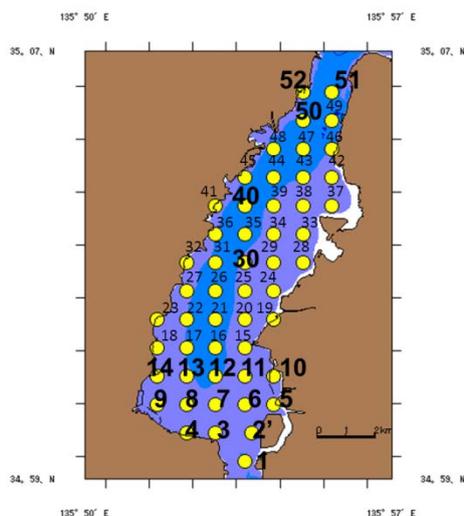
a 水草現存量の調査方法

水草（沈水植物）の現存量は芳賀ほか(2006)¹⁾、芳賀・石川(2011, 2014)²⁾³⁾と同様に琵琶湖南湖全域に1 km間隔のメッシュをあてはめ、その交点の52地点（図(1)-1）でダイバーによるコドラート法（50 cm × 50 cm）×3回で定量採取を行った。採取した水草は、研究室で水洗いしながら種毎に選別した後、種毎に60℃で恒量になるまで乾燥させた後、秤量した。これとは別途、水柱における水草の占める割合（PVI: Percentage Volume Infestation）を算出するため、ドップラー流向流速計（ADCP, 1200 kHz RDI）を用いて、湖底までの距離と4つのビームの最短との差から水草高を求めた。

2) 水草量の季節的变化

a 水草高の調査方法と現存量への換算

琵琶湖博物館では、2002年から南湖全域に500 m間隔の東西ラインを設定し、調査船「うみんど」に装着した魚群探知機を用いて月1回の頻度で水草高のモニタリングを実施してきた⁴⁾。南湖全体の水草量の季節変化を明らかにするため、このモニタリングデータを用いて、まず、月平均水草高を算出した。また、上記方法にて採取した9月の南湖平均水草現存量との関係式を作成し、各月の平均水草高を水草現存量に換算した。



図(1)-1 琵琶湖南湖水草現存量調査地点

3) ロジスティック曲線を用いた年間最大水草量を推定するモデル

a ロジスティック成長曲線

ある区域における種の個体群変動について、測定間隔 Δt で観測された個体群変化率は、

$$\frac{\Delta N}{\Delta t} = \frac{N(t + \Delta t) - N(t)}{\Delta t}$$

で表される。ここで、 N : 個体(群)数, t : 時間

個体あたりの個体群変化率 $R(t)$ は、

$$R(t) = \frac{N(t + \Delta t) - N(t)}{\Delta t N(t)}$$

より求めることができる。ここで、 $R(t)$ は時間間隔 Δt 上で測定されるとき単位時間当たりの成長率とよばれる。

$$R(t) \equiv \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{N(t + \Delta t) - N(t)}{\Delta t N(t)} = \frac{1}{N} \frac{dN}{dt}$$

したがって

$$R(t) = \frac{1}{N} \frac{dN}{dt}$$

ここで、成長率が定数(R_0)であるとする、個体群成長は、初期条件 $N(t_0) = N_0$ として、

$$\frac{dN}{dt} = R_0 N$$

と表すことができる。この解は、

$$N(t) = N_0 e^{R_0(t-t_0)}$$

となる。これは、 $R_0 > 0$ のとき、個体群が際限なく指数関数的に成長することを意味する。

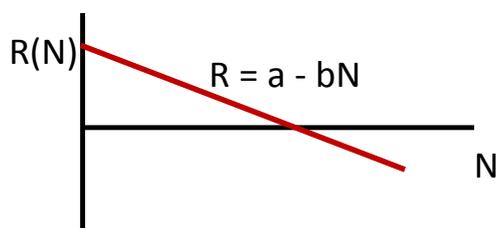
一般に、成長率、 $(1/N)$ 、 dN/dt は一定ではなく、個体群に依存すると考えられるので

$$\frac{dN}{dt} = NR(N)$$

となる。個体群が増加するとき、個体はまだ成長するが、個体群密度の増加による成長の抑制のために、より小さい成長率でしか成長しないと仮定される。つまり、 N が増加するにしたがって $R(N)$ は減少する（図(1)-2）。

ここで、 $R(N) = a - bN$ とすると、

$$\frac{dN}{dt} = N(a - bN)$$



図(1)-2 個体群密度の増加に伴う成長の抑制。a：環境的影響を受けない成長率、b：増加個体群密度の効果

次に、個体群変化率が個体群の現在の大きさのみに依存するような一般のモデル

$$\frac{1}{N} \frac{dN}{dt} = R(N)$$

を考える。成長率は一定で R_0 、遅れ τ で起こるとすると

$$\frac{dN(t)}{dt} = R_0 N(t - \tau)$$

と表せる。これを、ロジスティック方程式に適用すると

$$\frac{dN(t)}{dt} = N(t)(a - bN(t - \tau))$$

が得られる。これは以前の時間における個体群によって決定される比率で成長することを意味する。

この解は

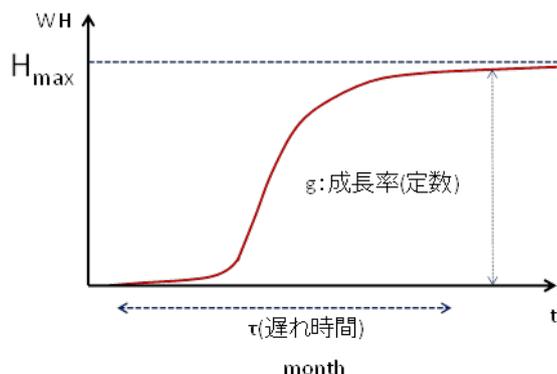
$$N = \frac{\frac{a}{b}}{1 + \left(\frac{a - bN_0}{bN_0} \right) e^{-a(t-\tau)}}$$

となる。ここで、左式にて $a=g$, $b=g/H_{\max}$ とおくと、

$$\begin{aligned} WH &= \frac{H_{\max}}{1 + e^{-g(t-\tau)}} \\ &= H_{\max} \cdot \frac{1}{1 + e^{-g(t-\tau)}} \end{aligned}$$

$$\Leftrightarrow H_{\max} = WH(1 + e^{-g(t-\tau)}) \quad \dots(1)$$

そこで本研究では、(1)式を用いて水草高の年間最大値(H_{\max})の推定を行った(図(1)-3)。



図(1)-3 水草高のロジスティックモデル成長曲線

WH, 水草高; H_{\max} , 水草高の年最大値; g , 成長率(定数); τ , 遅れ時間

b Step-wise法

Step-wise法は複数の説明変数の中から目的変数に大きな影響を与えている変数のみを用いて重回帰関数を決定する方法である。目的変数の予測に有効な説明変数を選択するときに F 値を求めるが、一般的には F 値が2以上なら有効な変数とされているため、本研究で用いたStep-wise法による重回帰分析についてこの値を判定基準に用いた。

$$F\text{値} = \left(\frac{\text{偏回帰係数}}{\text{偏回帰係数の標準誤差}} \right)^2$$

c モデル作成のためのデータの収集

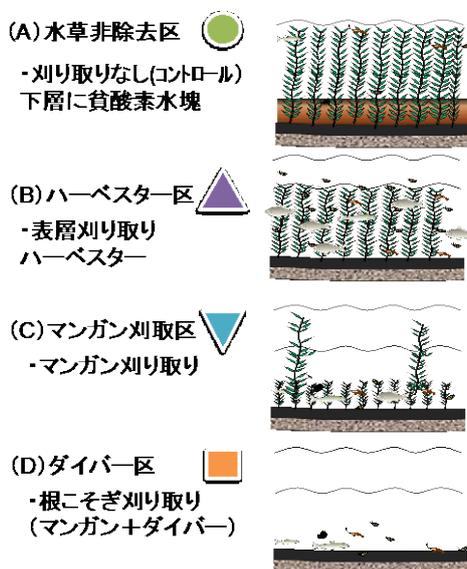
水草高のデータは、2002～2014年までの実測値を用いた。最大水草高の推定には比較的連続してデータが得られていた2004年、2011～2014年3月から9月の月1回の実測値を用いた(ただし、2004年は4月から9月)。水質データは、琵琶湖環境科学研究センターの定期観測における南湖の表層0.5 mにおける19点、1989～2014年の3～9月まで(1989年のみ4月から)、月1回のデータを使用した。ただし、唐崎沖中央(6B)、大宮川沖中央(7B)、新杉江港沖(8C)は1ヶ月の回数が異なるため、月平均値にして使用した。項目は、水温、透明度、pH、DO、BOD、COD、SS、TN、TP、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 PO_4^{3-} 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、Chl-*a*、Chl-*b*、Chl-*c*、フェオ色素である。気象データは、気象庁アメダスの地点大津より、降水量、気温、風速、日照時間の月毎値、および滋賀県環境科学研究センター(地点:大津)の全天日射量、紫外線A領域、紫外線B領域を収集した。

(2) 刈取り方法の違いによる生物群集への影響評価

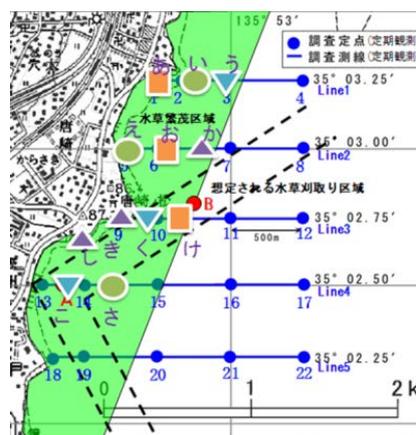
1) 大規模野外実験(生物群集への影響)

水草現存量と刈取り方法がそこに生息する生物の多様性とその環境に与える影響を評価するため、

4タイプの大規模野外処理区を設定した（図(1)-4）。実験は、琵琶湖南湖西岸唐崎～際川沖の水深2～4 mのエリアにそれぞれの処理区毎に3定点（St. あ～し）、合計12定点を設置した（図(1)-5）。各処理区は、250 m 以上の間隔をとり、沖側、岸側の差がないように配置した。



図(1)-4 大規模野外実験における水草非除去区(A)、表層刈取区(B)、マンガン刈取区(C)、ダイバー区(D)



図(1)-5 大規模野外実験区の設置エリア。A) 水草非除去区: St. い、St. え、St. か、 B) 表層刈取区: St. か、
き、し、C) マンガン刈取区: St. う、く、こ、D) 根こそぎ刈取区: St. あ、お、け

水草非除去区(A)は、対照区として自然の繁茂状況を残した。表層刈取区(B)は滋賀県が保有する表層刈取船(ハーベスター)により水面から1.5 mまでの水草を刈取り除去した。マンガン刈取区(C)は漁師が使用する貝曳漁具(マンガン)により調査地点を中心に周囲約50 mの範囲において2周×2回の水草を引き抜き除去した。この場合、水草は完全には除去されないでモザイク状に取り残される部分が残る。最後に、根こそぎ刈取区(D)では、まずマンガンで引き抜き除去した後に、除去しきれなかった水草をダイバーにより完全根こそぎ除去した。

実験の期間は、2015年4月25日～同年10月14日で、この期間、4タイプの水草繁茂状況が維持されるように水草の繁茂状況を観察しながら、マンガン11回(2週間に1回程度 図(1)-6)、ダイバー4回、

ハーベスター3回の水草除去を行った。



図(1)-6 大規模実験区におけるマンガンによる水草除去作業

a 水草類のモニタリング、環境項目（下方流速・湖底直上D0）と生物相の調査分析

水草類のモニタリングは、2015年4月25日、6月22日、8月26日、10月8日（悪天候のため一部は14日）に実施した。水草量は、50 cm×50 cmのコドラートを用いてダイバーにより水草を採取した後、実験室で種類毎に分別し、湿重量を測定した。また、各実験区の水草高とPVI(percentage volume infestation)を、2015年4月25日、7月8日、9月1日、10月8日（悪天候のため一部は14日）に取得したADCPのエコーデータを用いて算出した。湖底直上の溶存酸素濃度は、蛍光式のD0計を用いて測定した。

水草に付着する生物相調査において、付着動物は、上記のように採取した水草各種の一部約50 gと蒸留水500 mLをポリ袋内に入れ、もみほぐし洗浄し、上澄み液を付着動物サンプルとして砂糖ホルマリン4%で固定・保存した。また、付着藻類については、同様に水草各種の一部約5 gをシャーレに取り、歯ブラシで丁寧に藻類を剥離させたのち、藻類を含む液を約50 mL収集してホルマリン4%で固定・保存した。付着生物のサンプルは、実体顕微鏡下で丁寧にソーティングを行い、必要に応じて顕微鏡下での同定および計数を行った。

底生動物は、エクマン採泥器（15 cm × 15 cm）を用いて採取した湖底泥について、250 μmのメッシュ上で洗浄し、残渣をホルマリン10%で固定・保存した。固定サンプルは、希釈して実体顕微鏡下で同定・計数を行った。動物プランクトンは、北原式定量プランクトンネット（メッシュサイズ 100 μm, 口径24 cm）を用いて湖底から湖面まで2回、鉛直曳きにて採取し、砂糖ホルマリン4%で固定・保存した。サンプルは濃縮沈殿後、顕微鏡下で同定・計数を行った。

b 係留系を用いた湖底直上50 cmにおける溶存酸素飽和度(D0%)の連続測定

湖底直上のD0%をモニタリングするため、St. さ（水草非除去区）、St. き（表層刈取区）、St. こ（マンガン刈取区）、St. け（根こそぎ刈取区）の4地点（図(1)-5）において、湖底直上50 cmに、2015年8月21日～9月1日の期間、メモリー式自動観測機を設置してD0%を測定した。



図(1)-7 大規模野外実験区におけるダイバーによるサンプル採取の様子 (2015/6/22 St. き)

2) 水草刈り取り方法が水草群集組成に与える影響評価のための追加実験

2016年6月に、2名のダイバーにより水草を完全に除去した「水草除去区」と水草が多い「コントロール区」を設置し、その後の水草の遷移を観察した。実験区画はそれぞれ5 m × 5 mとし、2015年度の大津市唐崎沖大規模野外実験区「あ」～「し」(図(1)-5)の中から、「か」「く」「さ」の3地点を選び、それぞれに水草除去区とコントロール区を設け、合計6区画を設置した。

実験区「か」「く」「さ」の選定については、水深が同程度、糸状藻類(アオミドロ)が少ないこと、優占種が異なること、実験区が異なることを条件とした(表(1)-1)。

表(1)-1 平成28年度 水草刈り取り方法が水草群集組成に与える影響評価のための追加実験詳細比較

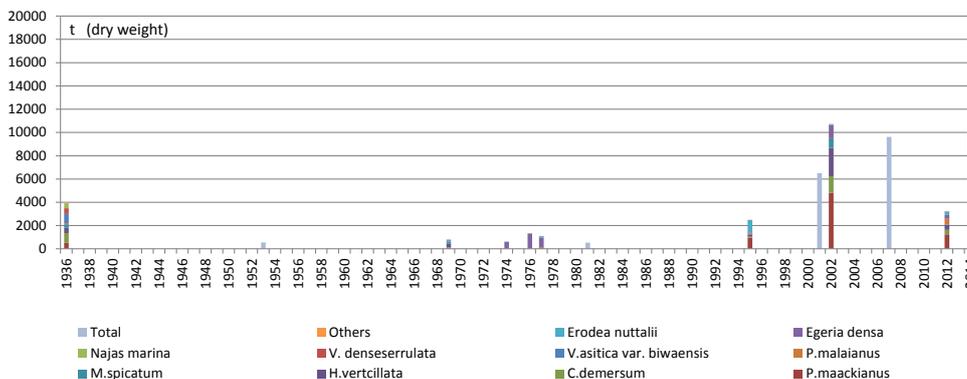
実験区	水深	H27実験	アオミドロ 糸状藻類	平均水草量 g(wet)/m ²	H27年4月	H27年6月	H27年8月	H27年10月
か	3.7m	ハーベスター区	少	3168	センニンモ	コカナダモ	コカナダモ クロモ	コカナダモ
く	3.6m	マンガン区	少	2465	コカナダモ 糸状藻類	コカナダモ	センニンモ コカナダモ	クロモ センニンモ
さ	3.6m	刈取りなし区	少	3208	コカナダモ	コカナダモ	センニンモ	センニンモ

4. 結果及び考察

(1) 水草の成長速度の推定

1) 水草現存量の調査と中長期的変化

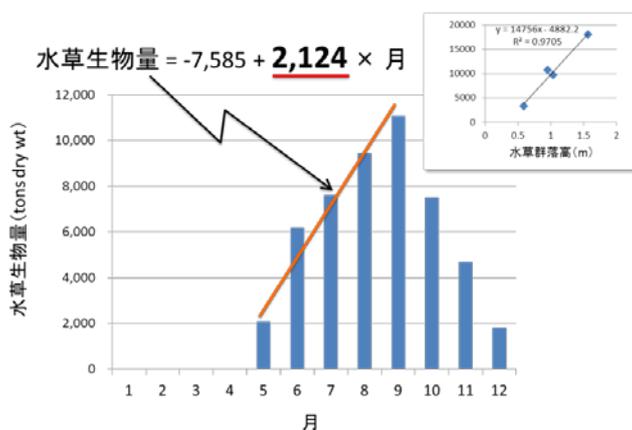
Haga (2011)⁵⁾およびこれまでの現地調査から、琵琶湖南湖の水草バイオマスの中長期データの解析を行ったところ、長期的にみると、1936年～2014年において500～18,000 t(乾燥重量)の範囲で変動していることが分かった(図(1)-8)。また、水草が急速に回復した過去20年間(1994年以降)に限定すると3,000～18,000 t(乾燥重量)の範囲で変動していることが明らかになった。特に、2014年度は記録史上最高であった。このことから、収穫できる水草量の年変動は大きいことが伺われる。また水草の種類について、1936年当時は琵琶湖固有種のネジレモのような水草丈の短いロゼット型の水草種が優占していたが、近年は外来種・在来種を問わず枝分かれのある水草丈の高くなるタイプのセンニンモ(在来種)、コカナダモ(外来種)、クロモ(在来種)、オオカナダモ(外来種)、ホザキノフサモ(在来種)等が優占している⁶⁾。冬季に植物体で越冬する種とそうでない種があるが、いずれの種も繁殖期は夏から秋である。



図(1)-8 水草現存量の長期的変化

2) 水草量の季節的变化

魚群探知機による毎月の南湖平均水草群落高の変化とコドラート法によって調査した現存量の関係から、水草生物量の季節変化について推定を行ったところ、5月から9月の間に明確な成長がみられ(図(1)-9)、この期間の平均成長速度は、4,124 t dry-wt/月と推定できた。月別に計算した成長速度は6月が最も高く、10月以降は負の値となる(図(1)-10)。これは、水草が流れ藻になるか自然分解されるためであり、現存量は減少傾向を示した。これらのことは、琵琶湖南湖全域における水草の年間生産量が平均で10,000 t dry-wt/年であり、滋賀県が刈り取っている水草量(500-700 t dry-wt/年)がこの5-7%にしか過ぎないことを示す。



図(1)-9 2002～2012年の月別平均生物量から推定した琵琶湖南湖での水草成長速度



図(1)-10 水草成長量の推定

3) 年間最大水草量を推定するモデル

a 環境パラメータの選定

最大水草高の推定に用いる項目を水質項目(水温、透明度、pH、DO、BOD、COD、SS、TN、TP、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 PO_4^{3-} 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、Chl-*a*、Chl-*b*、Chl-*c*、フェオ色素)および気象要素の中から選定するために、各項目との相関を調べた。

- ① 水草高の実測値がある全ての月(45か月分、 $n=45$)について、水草高(WH)、水質項目ならびに気象要素の関係を調べた(図(1)-11)。
- ② 3～9月までの連続データがある2004年と2011～2014年の3～9月のデータを用いて(2004のみ4～9月)($n=33$)、WH、水質項目ならびに気象要素の関係を調べた(図(1)-12)。

③ 1989～2014年までの3～9月のデータを用いて(1989年のみ4～9月)(n=181)、それぞれの水質項目間の関係を調べた(図(1)-13)。

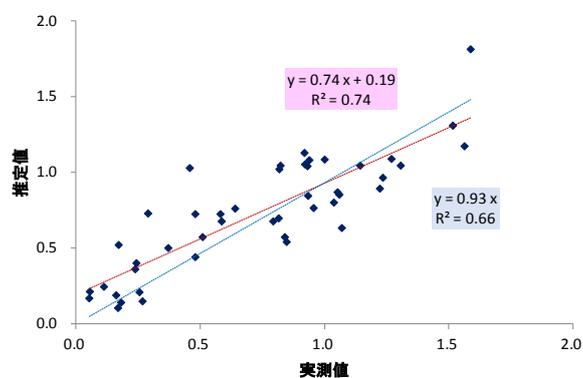
	W.H.(m)	水温(°C)	透明度(m)	pH	DO(mg/l)	BOD(mg/l)	COD(mg/l)	SS(mg/l)	T-N(mg/l)	T-P(mg/l)	NH ₄ -N(mg/l)	NO ₂ -N(mg/l)	NO ₃ -N(mg/l)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	PO ₄ ³⁻ -P(mg/l)	Chl-a(μg/l)	Chl-b(μg/l)	Chl-c(μg/l)	フコケ素(μg/l)	陸水産物(μg/l)	平均気温(°C)	最高気温(°C)	最低気温(°C)	平均流速(m/s)	最大流速(m/s)	日照時間(時間)	日照時間(時間)	日照分UV-B(μJ/m ²)	日照分UV-A(μJ/m ²)	日照分目録(MJ/m ²)		
W.H.(m)	1.00																															
水温(°C)	0.72	1.00																														
透明度(m)	0.63	0.51	1.00																													
pH	0.54	0.72	0.55	1.00																												
DO(mg/l)	-0.51	-0.78	-0.29	-0.60	1.00																											
BOD(mg/l)	-0.45	-0.28	-0.72	-0.09	0.30	1.00																										
COD(mg/l)	0.01	0.34	-0.37	0.30	-0.15	0.66	1.00																									
SS(mg/l)	-0.63	-0.61	-0.85	-0.43	0.68	0.69	0.34	1.00																								
T-N(mg/l)	-0.04	-0.13	-0.10	-0.09	0.00	0.07	0.02	0.08	1.00																							
T-P(mg/l)	-0.12	-0.12	-0.54	-0.25	0.13	0.49	0.50	0.57	0.09	1.00																						
NH ₄ -N(mg/l)	0.14	0.10	0.06	-0.09	-0.24	-0.14	-0.12	-0.10	-0.03	0.04	1.00																					
NO ₂ -N(mg/l)	-0.10	-0.33	-0.15	-0.20	0.28	0.02	-0.27	0.16	-0.02	-0.03	0.42	1.00																				
NO ₃ -N(mg/l)	-0.48	-0.77	-0.37	-0.58	0.61	0.03	-0.45	0.40	0.13	0.00	0.24	0.54	1.00																			
PO ₄ ³⁻ (mg/l)	0.38	0.29	0.12	-0.08	-0.17	-0.20	0.13	-0.15	0.05	0.38	0.22	-0.07	-0.12	1.00																		
PO ₄ ³⁻ -P(mg/l)	0.60	0.30	0.29	0.21	-0.24	-0.29	-0.08	-0.30	-0.14	0.26	0.33	0.22	-0.04	0.94	1.00																	
Chl-a(μg/l)	-0.42	-0.33	-0.30	-0.18	0.23	0.00	0.66	0.10	0.68	-0.14	0.03	0.14	-0.08	-0.28	1.00																	
Chl-b(μg/l)	-0.07	0.03	-0.37	0.22	-0.02	0.56	0.67	0.42	0.03	0.26	-0.10	-0.12	-0.19	-0.08	-0.05	0.80	1.00															
Chl-c(μg/l)	-0.62	-0.89	-0.53	-0.63	0.72	0.41	-0.28	0.63	0.09	0.29	-0.10	0.29	0.85	-0.24	-0.19	0.34	-0.06	1.00														
フコケ素(μg/l)	-0.39	-0.39	0.65	-0.29	0.33	0.15	0.59	0.71	0.22	0.58	-0.19	-0.05	0.13	-0.05	0.26	0.87	0.83	0.46	1.00													
陸水産物(μg/l)	0.24	0.23	0.12	0.13	-0.24	-0.13	0.06	-0.16	0.08	0.02	0.11	0.36	-0.02	0.16	0.25	0.50	0.08	-0.27	-0.07	1.00												
平均気温(°C)	0.67	0.95	0.45	0.73	-0.76	-0.16	0.36	0.56	-0.07	-0.12	0.15	-0.26	-0.76	0.22	0.27	-0.24	0.14	-0.83	-0.30	0.25	1.00											
最高気温(°C)	0.64	0.91	0.42	0.69	-0.67	-0.10	0.37	0.51	-0.07	-0.07	0.14	-0.26	-0.76	0.24	0.26	-0.21	0.15	-0.78	-0.26	0.21	0.97	1.00										
最低気温(°C)	0.66	0.92	0.45	0.74	-0.76	-0.16	0.32	0.56	-0.04	-0.13	0.17	-0.22	-0.66	0.17	0.29	-0.33	0.16	-0.81	-0.30	0.20	0.97	0.91	1.00									
平均流速(m/s)	-0.47	-0.62	-0.39	-0.55	0.50	0.31	0.00	0.45	0.18	0.32	-0.33	-0.15	-0.30	-0.38	0.37	0.10	0.69	0.49	-0.33	-0.60	-0.57	-0.61	1.00									
最大流速(m/s)	-0.46	-0.52	-0.39	-0.41	0.42	0.24	-0.03	0.33	0.21	0.24	-0.19	-0.05	0.36	-0.05	-0.08	0.37	0.03	0.58	0.34	0.01	-0.54	-0.54	-0.51	0.87	1.00							
日照時間(日照未測定日除く)	0.17	0.17	0.17	0.17	-0.01	-0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
日照時間(時間)	-0.18	-0.14	-0.01	-0.20	0.14	-0.01	0.01	0.04	-0.03	0.01	-0.30	-0.42	-0.16	0.02	-0.17	0.09	0.04	0.14	0.16	-0.50	-0.16	-0.12	-0.24	0.44	0.59	-0.61	1.00					
日照分UV-B(μJ/m ²)	0.55	0.84	0.25	0.70	-0.76	0.04	0.42	-0.39	0.07	0.00	0.08	-0.34	-0.80	0.07	0.22	-0.05	0.25	-0.74	-0.08	0.08	0.92	0.90	-0.59	-0.68	-0.28	0.14	1.00					
日照分UV-A(μJ/m ²)	0.31	0.61	0.11	0.49	-0.56	0.18	0.39	-0.23	0.03	0.03	-0.01	-0.32	-0.75	0.01	0.06	0.03	0.23	-0.53	0.03	-0.14	0.73	0.75	0.68	-0.44	-0.67	-0.33	0.39	0.92	1.00			
日照分目録(MJ/m ²)	0.18	0.50	0.03	0.34	-0.47	0.20	0.36	-0.15	0.03	0.03	-0.06	-0.32	-0.70	0.04	-0.04	0.05	0.20	-0.45	0.08	-0.22	0.60	0.64	0.54	-0.34	-0.64	-0.38	0.57	0.83	0.97	1.00		

図(1)-11 相関係数の算出(2002～2014年の水草高実測値のある期間、水質と気象、p<0.01)

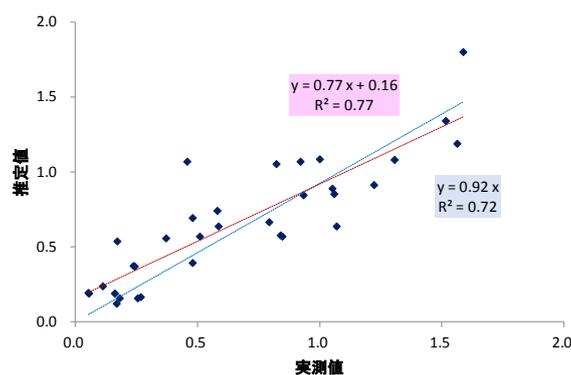
	W.H.(m)	水温(°C)	透明度(m)	pH	DO(mg/l)	BOD(mg/l)	COD(mg/l)	SS(mg/l)	T-N(mg/l)	T-P(mg/l)	NH ₄ -N(mg/l)	NO ₂ -N(mg/l)	NO ₃ -N(mg/l)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	PO ₄ ³⁻ -P(mg/l)	Chl-a(μg/l)	Chl-b(μg/l)	Chl-c(μg/l)	フコケ素(μg/l)	陸水産物(μg/l)	平均気温(°C)	最高気温(°C)	最低気温(°C)	平均流速(m/s)	最大流速(m/s)	日照時間(時間)	日照時間(時間)	日照分UV-B(μJ/m ²)	日照分UV-A(μJ/m ²)	日照分目録(MJ/m ²)			
W.H.(m)	1.00																																
水温(°C)	0.70	1.00																															
透明度(m)	0.68	0.47	1.00																														
pH	0.59	0.70	0.42	1.00																													
DO(mg/l)	-0.62	-0.62	-0.39	-0.49	1.00																												
BOD(mg/l)	-0.43	-0.29	-0.78	0.41	0.25	1.00																											
COD(mg/l)	-0.03	0.38	-0.44	0.42	-0.33	0.71	1.00																										
SS(mg/l)	-0.68	-0.59	-0.88	-0.32	0.52	0.74	0.37	1.00																									
T-N(mg/l)	0.01	-0.06	-0.05	0.01	-0.02	0.01	0.01	0.03	1.00																								
T-P(mg/l)	-0.16	-0.05	-0.51	-0.07	-0.03	0.51	0.45	0.69	0.04	1.00																							
NH ₄ -N(mg/l)	0.44	0.18	0.22	0.02	-0.17	-0.19	-0.20	-0.21	-0.11	0.03	1.00																						
NO ₂ -N(mg/l)	-0.03	-0.34	-0.05	-0.10	0.41	-0.01	-0.26	0.11	-0.07	-0.05	0.27	1.00																					
NO ₃ -N(mg/l)	-0.48	-0.78	-0.32	-0.55	0.73	-0.01	-0.47	0.36	0.02	-0.07	0.17	0.48	1.00																				
PO ₄ ³⁻ (mg/l)	0.35	0.28	0.13	-0.09	-0.36	-0.16	0.00	-0.20	0.10	0.21	0.41	-0.05	-0.13	1.00																			
PO ₄ ³⁻ -P(mg/l)	0.65	0.34	0.37	0.31	-0.30	-0.30	-0.11	-0.36	-0.15	0.18	0.76	0.28	-0.05	0.94	1.00																		
Chl-a(μg/l)	-0.41	-0.22	-0.37	0.01	0.24	0.02	0.74	0.75	0.04	0.43	-0.26	0.00	0.07	-0.08	-0.31	1.00																	
Chl-b(μg/l)	-0.03	0.12	-0.37	0.28	-0.05	0.56	0.75	0.41	0.00	0.25	-0.16	-0.14	-0.25	-0.05	-0.06	0.81	1.00																
Chl-c(μg/l)	-0.58	-0.87	-0.52	-0.59	0.85	0.34	-0.32	0.63	0.00	0.29	-0.06	0.36	0.70	-0.17	-0.21	0.20	-0.19	1.00															
フコケ素(μg/l)	-0.39	-0.29	-0.71	-0.12	0.20	0.73	0.82	0.71	0.29	0.51	-0.27	-0.08	0.07	-0.08	-0.35	0.87	0.88	0.24	1.00														
陸水産物(μg/l)	0.20	0.29	0.15	0.24	-0.25	-0.00	0.13	-0.22	0.07	0.09	0.10	0.37	-0.09	0.36	0.34	0.01	0.09	-0.31	-0.08	1.00													
平均気温(°C)	0.66	0.97	0.41	0.75	-0.68	-0.11	0.41	0.69	-0.03	-0.06	0.13	-0.31	-0.79	0.22	0.29	-0.14	0.21	-0.79	-0.22	0.23	0.97	1.00											
最高気温(°C)	0.64	0.92	0.38	0.71	-0.62	-0.07	0.38	0.49	-0.03	-0.06	0.18	-0.29	-0.79	0.22	0.29	-0.14	0.21	-0.79	-0.22	0.23	0.97	0.97	1.00										
最低気温(°C)	0.71	0.95	0.43																														

表(1)-2 環境パラメータの選定

	全期間WH(m)	対象年WH(m)	
WH(m)	1.00	1.00	
水温(°C)	0.72	0.70	温度
透明度(m)	0.63	0.68	光
pH	0.54	0.59	その他
DO(mg/l)	-0.51	-0.62	その他
BOD(mg/l)	-0.45	-0.43	栄養
COD(mg/l)	0.01	-0.03	
SS(mg/l)	-0.63	-0.66	光
T-N(mg/l)	-0.04	0.01	
T-P(mg/l)	-0.12	-0.16	
NH ₄ -N(mg/l)	0.14	0.44	栄養
NO ₂ -N(mg/l)	-0.10	-0.03	
NO ₃ -N(mg/l)	-0.48	-0.46	栄養
PO ₄ ³⁻ (mg/l)	0.38	0.35	
PO ₄ -P(mg/l)	0.60	0.65	栄養
Chl-a(μg/l)	-0.42	-0.41	光
Chl-b(μg/l)	-0.07	-0.03	
Chl-c(μg/l)	-0.62	-0.58	光
フコ色素(μg/l)	-0.39	-0.39	
降水量合計(mm)	0.24	0.30	
平均気温(°C)	0.67	0.68	温度
最高気温(°C)	0.64	0.64	温度
最低気温(°C)	0.68	0.71	温度
平均風速(m/s)	-0.47	-0.51	温度
最大風速(m/s)	-0.46	-0.41	温度
日照時間0.1時間未満日数(日)	-0.05	0.02	
日照時間(時間)	-0.16	-0.27	
日積分UV-B(kJ/m ²)	0.55	0.55	温度
日積分UV-A(kJ/m ²)	0.31	0.31	
日積分日射(MJ/m ²)	0.18	0.18	



図(1)-14 全期間での一次式によるWH推定値と実測値の比較



図(1)-15 2004、2011-2014年の一次式によるWH推定値と実測値の比較

表(1)-3 水温・透明度ならびにPO₄-Pの正規性の検定

正規性の検定							
水温	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月
2004年	A	B	C	D	E	F	G
2011年	H	I	J	K	L	M	N
2012年	O	P	Q	R	S	T	U
2013年	V	W	X	Y	Z	AA	AB
2014年	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI
透明度	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月
2004年	A	B	C	D	E	F	G
2011年	H	I	J	K	L	M	N
2012年	O	P	Q	R	S	T	U
2013年	V	W	X	Y	Z	AA	AB
2014年	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI
PO ₄ -P	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月
2004年	A	B	C	D	E	F	G
2011年	H	I	J	K	L	M	N
2012年	O	P	Q	R	S	T	U
2013年	V	W	X	Y	Z	AA	AB
2014年	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI
	正規性あり			正規性なし			

それぞれ相関係数を求め、WHと正の相関と負の相関、それ以外の項目に分類し、それらの項目のうち正の相関相関関係を示す温度、光、栄養に関する項目について、それぞれ水温、透明度、PO₄-Pを選び出した(表(1)-2)。選んだ3つの項目(水温・透明度・PO₄-P)を用いてStep-wise法により推定WHを求め、実測WHと比較したところ、水草高の全データのある2002年から2014年の期間ではR²=0.66であり(図(1)-14)、2004年、2011~2014年の期間ではStep-wise法によりWHを推定したところR²=0.72になった(図(1)-15)。参考までに正規性の検定を行ったところ、課題としてはPO₄-Pの標準誤差が大きく(表(1)-3)、これは測定精度に依存すると考えられた。

b パラメータ(g と τ)の同定

成長率(定数) g は、ロジスティック方程式において成長率(定数)にあたる。 g をある年の最大WH($=H_{max}$)

—最小WH ($=H_{\min}$) とし、5月の水温・透明度・ PO_4 -Pの19地点平均値の関係をStep-wise法により決定した(表(1)-4)。透明度と PO_4 -PのF値は $F>2$ を満たしたが、水温では $F<2$ であった。

$$g = -0.040 \cdot \text{水温} + 0.745 \cdot \text{透明度} + 286.242 \cdot [PO_4-P] - 0.684 \quad (2)$$

推定値と実測値の対応は $R^2=0.97$ となった。

表(1)-4 Stepwise法によるgの推定式

	回帰係数	標準誤差	標準回帰係数	偏相関係数	F 値
定数項	-0.684	3.056	-0.684		0.1
水温(°C)	-0.040	0.207	-0.070	-0.191	0.0
透明度(m)	0.745	0.226	1.082	0.957	10.9
PO_4 -P(mg/l)	286.242	126.660	0.822	0.914	5.1

遅れ時間 τ は、理論的には H_{\min} から H_{\max} までにかかった時間を表す。観測地は月単位のために、 τ が整数値になってしまい、 H_{\max} を正確に推定できない。このため、5月の水温・透明度・ PO_4 -Pに加え5月のWHを用い、仮 H_{\max} を推定し、ロジスティック式により各年の τ を推定した。

仮 H_{\max} は、5月の水温・透明度・ PO_4 -Pを用いてStep-wise法により各年の仮 H_{\max} を推定すると以下の関係が得られた。

$$\text{仮}H_{\max} = 0.122 \cdot \text{水温} + 0.608 \cdot \text{透明度} + 180.839 \cdot [PO_4-P] - 2.895 \quad (3)$$

2004年および2011-2014年のデータでの仮 H_{\max} の相関係数は $R^2=0.88$ であったが、F値は満たさなかった。

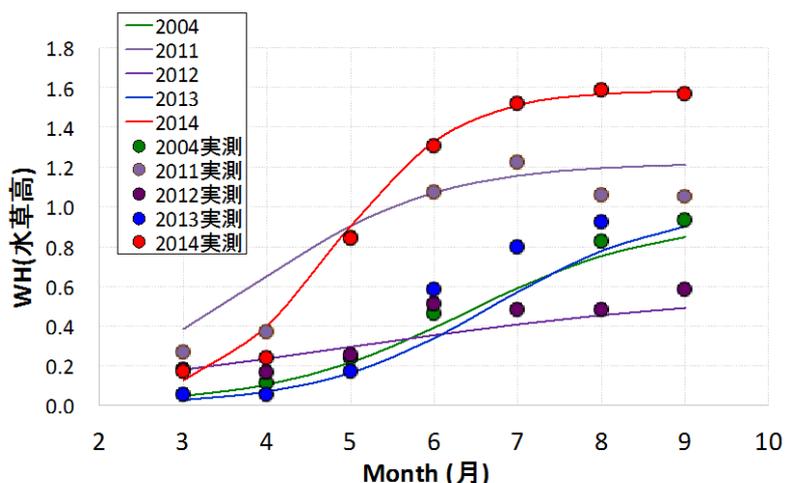
5月の水温・透明度・ PO_4 -Pを用いて、(2)式によりgおよび(3)式により仮 H_{\max} をそれぞれ年ごとに決定した。そして5月のWH観測値、 $t=5$ を(4)式に入力し、 τ を求めた。

$$\text{仮}H_{\max} = WH(1 + e^{(-g(t-\tau))}) \quad \dots(4)$$

仮の H_{\max} を用いて、(4)式により τ を求めた結果、2004年は6.377、2011年は3.861、2012年は4.975、2013年は6.700、2014年は4.800となった。このようにして、 H_{\max} の月と H_{\min} の月の差の(=理論上の τ の値)に近い値が得られた。

c 最大水草高推定モデルおよび推定精度検証

2004年および2011-14年の5月の水温・透明度・ PO_4 -Pの値をロジスティックモデル(1)式に適用し、各年のWHと H_{\max} を推定した(図(1)-16)。その結果、WHの実測値と推定値の関係は $R^2=0.95$ となり、実測値との対応は良好であった。また、各年の H_{\max} の実測値と推定値を比較すると $R^2=0.96$ となった。さらに、推定した τ を考慮して各年の実測 H_{\max} と H_{\max} を比較すると $R^2=0.98$ と推定精度が高かった。



図(1)-16 ロジスティックモデルによるモデル式（実線）と実測値（シンボル）の関係

d シミュレーション

2004年ならびに2011-2014年の5月の水温・透明度・ PO_4-P の最大値をそれぞれの年度に入力し、シミュレーションを行った(図(1)-17)。事例としては、水温のみ最大、透明度のみ最大、 PO_4-P のみ最大、水温および透明度が最大、透明度および PO_4-P が最大、水温および PO_4-P が最大、3項目が全て最大の7通りを試した。各事例に対して、それぞれ g 、仮 H_{max} と τ を計算した。

5年間の5月の値の水温、 PO_4-P ならびに透明度の最大値をそれぞれに与えた。 g および仮 H_{max} は実測値との対応から求めた(2)および(3)の経験式を用いて求めた。そして、(4)式にて τ の値を再計算し、WHならびに H_{max} を算出した。したがって、シミュレーションでは5月のWHは実測値を用いているが、 g と仮 H_{max} ならびに τ の値は計算により変化する。

代表的な4つの事例について述べる。

① 水温のみ

水温のみを最大に設定した場合には、全体的に大きく変わらなかったが、 H_{max} は2014年は低くなり、2004年は高くなった。 τ の値は2012年のみ4.795→6.4000と差が1.425と大きく変わったが、それ以外の年での差は-0.06~0.21の範囲であった。

② PO_4-P のみ

2014年以外の H_{max} は高くなったが、大きく変わった点は、2011年と2013年で H_{max} の上昇が顕著であった。

③ 透明度のみ

2004年と2012年で H_{max} が顕著に上昇した。2014年は図(1)-16の推定値とほぼ変わらず、2013年は H_{max} はほぼ同じだが、2011年はやや低下した。

④ 全て(水温・ PO_4-P ・透明度)を最大にした場合

対象にした5年間での実測 H_{max} は1.59 mであったが、3項目を最大にすると H_{max} は1.61 mになった。2011年と2014年のようにWHの立ち上がり早いパターンと、2004年、2012年ならびに2013年のようにWHの立ち上がり遅いパターンの2つの傾向に分かれた。これは、5月の段階でのWHの値が異なることが考えられる。5月のWHが低くても、光・温度・栄養の条件によっては8月9月ごろにかけて H_{max} は高くなる。

初期の段階の水草高が高い場合には4-5月頃に成長量が大きく ($\Delta WH/\Delta t$ が大きい)、初期の水草高が低いと5-7月にかけて成長量が大きい傾向がみられた。2013年に関しては、初期のWH値が最も低く、最も遅れて成長する傾向がみられた。

以上より、水草の成長には透明度と $PO_4\text{-P}$ を変化させると最大水草高に変化が見られた。また、初期の5月の段階の水草高が低くても、水質項目の条件によって、9月頃までに水草高が初期に高い年よりも高くなる可能性が示唆された。

以上の検討の結果、本研究では、当該年の最大水草高を推定するには、5月の水草高、水温、 $PO_4\text{-P}$ 濃度を用いて以下(5)式を利用することを提案する。

$$H_{\max} = WH(1 + e^{(-g(t-\tau))}) \quad \dots (5)$$

① 成長速度(g)

$$g = -0.097 \cdot T + 0.839 \cdot Tr + 319.239 \cdot P + 0.032$$

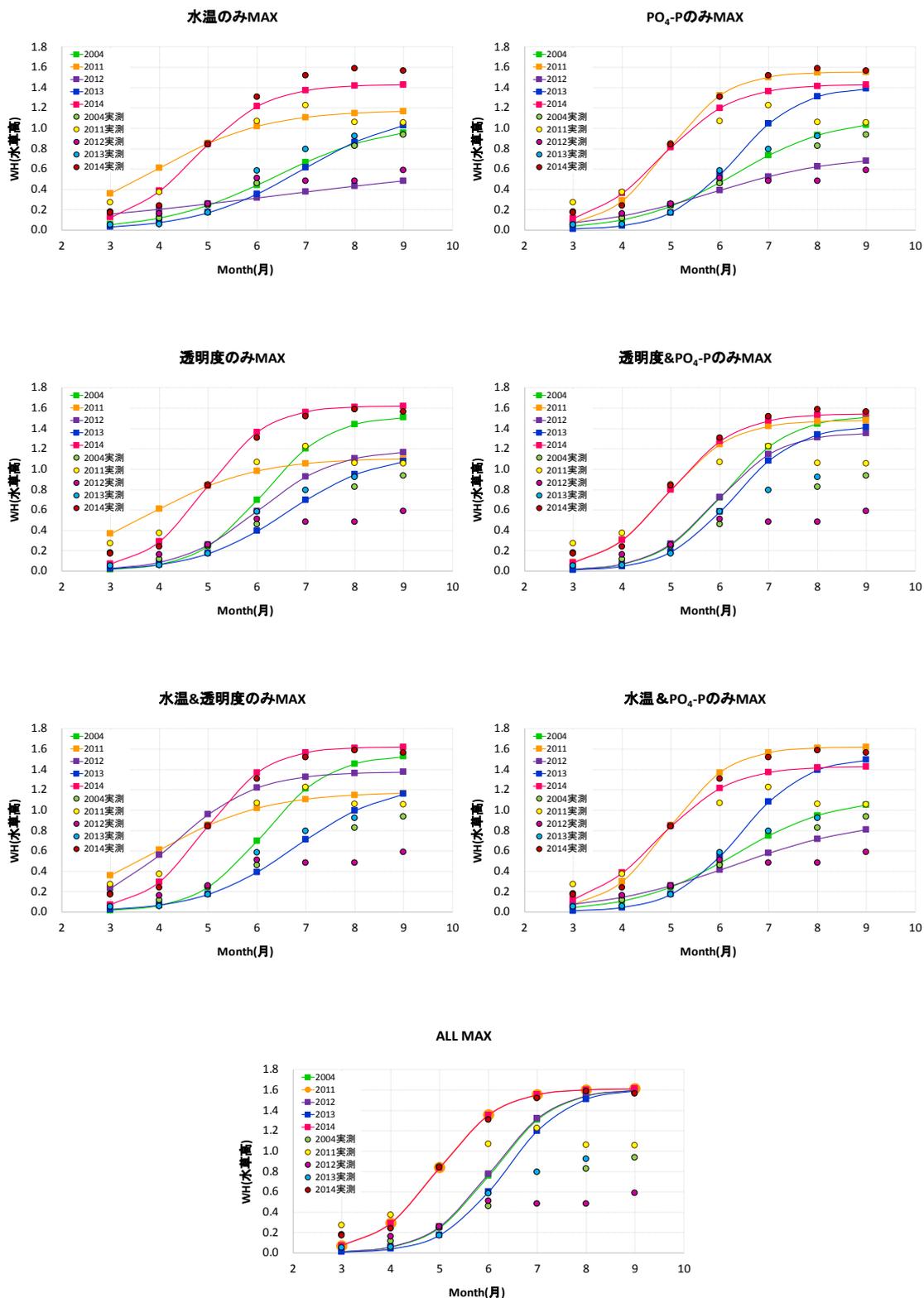
② 最大水草高(H_{\max})

$$H_{\max} = 0.012 \cdot T + 0.756 \cdot Tr + 247.285 \cdot P - 1.387$$

③ 成長時期(τ)

$$\tau = \ln(H_{\max}/WH - 1)/g + 5$$

モデルは当該年の最大水草高 (H_{\max}) の推定を目的としているため、5月のWHの値は τ の計算時のみにしか用いていないが、WHと3項目との関係もおおよそ相関があることを考慮に入れると、5月の段階での水草高が必ずしもその年の最大水草高を反映しているとは限らないと考えられるため、水質項目も考慮した上で、その年の最大水草高を見積もる必要があることが明らかになった。



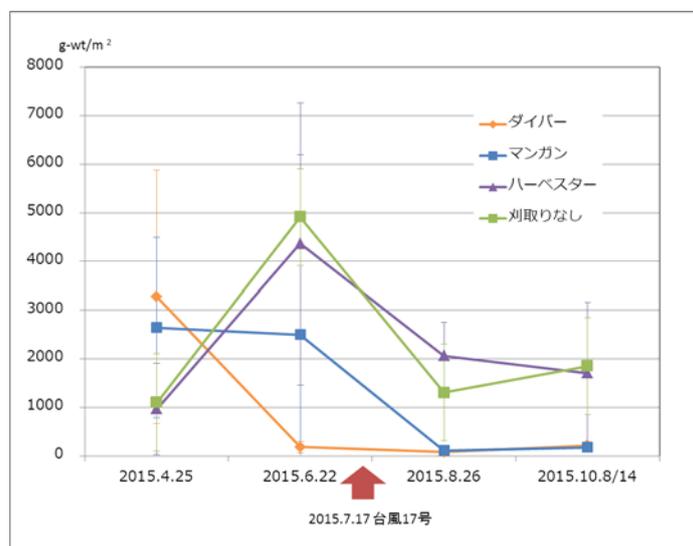
図(1)-17 シミュレーション結果

(2)刈取り方法の違いによる生物群集への影響評価

1)大規模野外実験（生物群集への影響）

a 野外実験区における水草量の変化

野外実験区における水草量の変化を図(1)-18 に示した。2015年の実験を開始した4月は、水草量の平均値が最も多いのが、根こそぎ刈取区（以下、ダイバー区）で3,273 g wet-wt/m²であったが、その後、6月の調査時には水草除去により水草非除去区（以下、刈取なし区）（平均4,910 g wet-wt/m²）、表層刈取区（以下、ハーベスター区）（平均4,362g-wt/m²）、マンガン刈取区（以下、マンガン区）（平均2,493g-wt/m²）、ダイバー区（平均181 g wet-wt/m²）の順に整えられた。2015年は7月17日に大型台風17号が通過したため、多くの水草が流れ藻となって流出し、その後は活発な成長が見られなかった。実験期間中は継続的に刈取り・除去を行い、8月および10月の調査時の実験区は、刈取なし区とハーベスター区(平均1,305~2,060 g wet-wt/m²)の範囲で推移したのに対し、マンガン区とダイバー区は、(平均75~217 g wet-wt/m²)の範囲で少ない状態に抑えられていた。



図(1)-18 野外実験区における水草量の変化 (Barは3地点の標準誤差)

b 水草種組成の変化

水草の種組成を図(1)-19に示した。全地点を平均してみると、4月はコカナダモ(図の赤色部分)、センニンモ(図の緑色部分)、糸状藻類(図の青色部分)の占める割合が多かった。6月は平均するとコカナダモのみが64%以上の割合を占めた。8月、10月と糸状藻類が多かったが、8月は主にリングビア・アオミドロが優占し、10月はアオミドロが優占した。しかし、地点ごとに種組成およびその変化は異なっており、顕著な特徴は見られなかった。また、水草刈取りおよび除去を行うことで、特定の水草が増えやすくなる等の特徴も見られなかった。このことから、水草刈取り・除去で種組成を人工的に操作することは難しいことがわかった。

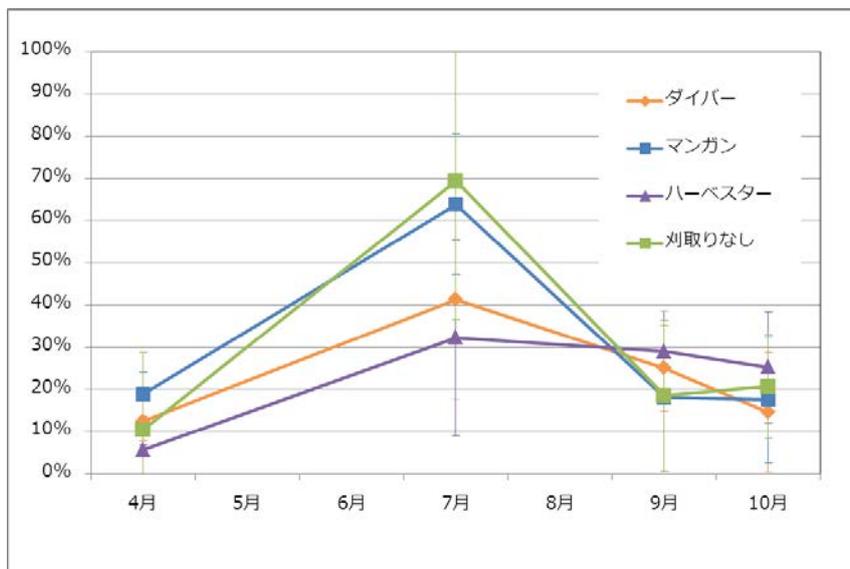
一方、刈取なし区では、1つの種が75%以上を占める割合が高い傾向が見られた。人工的に刈取り・除去といった物理的な攪乱を起こすことで、それまでの繁茂状態が破壊され、空いたスペースに横から新たに流れ込む水草数種の競争が生じている状況になると考えられた。すなわち、今回の水草モニタリング結果から、刈取り・除去をしないと1種が優占しやすく(純群落を作り

やすい) 自然の消長に伴う季節変化がみられるようになる。一方、刈取り・除去を行うと、混在した水草群落になり、組成変化の予測が困難になると考えられた。



図(1)-19 水草種組成の変化。緑：センニンモ、紫：クロモ、赤：コカナダモ、橙：マツモ、青：糸状藻類、水色：エビモ

c 水草PVIの変化



図(1)-20 水草高から求めたPVIの変化

水草高から求めた水域における水草の占める割合（PVI）の変化を図(1)-20 に示した。4月はいずれの処理区においても平均20%未満であったが、7月は刈取なし区、マンガン区が、それぞれ69%、64%であったのに対し、ダイバー区、ハーベスター区が41%、32%となり、図(1)-16で示したコドラートで採取した水草量の順番と異なる結果となった。9月、10月は、いずれの処理区においても平均30%未満になり、大きな差は見られなかった。

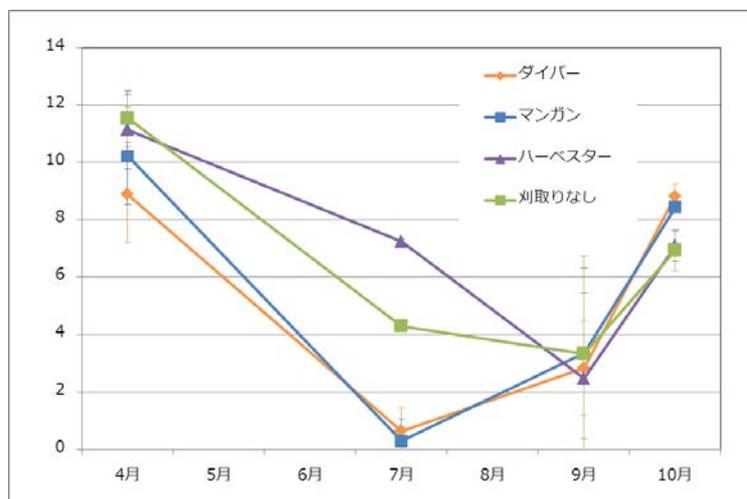
マンガンによる水草除去は、根こそぎ採取できる一方で取り残しが生じやすい。取り残しがあると背丈の高い水草が一部生育した状態になる。水草高は、音響装置を用いたビームの反射で測定するため、マンガン区では水草非除去区と差がほとんどみられないのだろう。一方、ハーベスターのように表層を機械的に全面刈取りできる手法で水草を除去すると、水草高を下げる効果が高くなることがわかった。

d 湖底直上溶存酸素濃度への影響評価

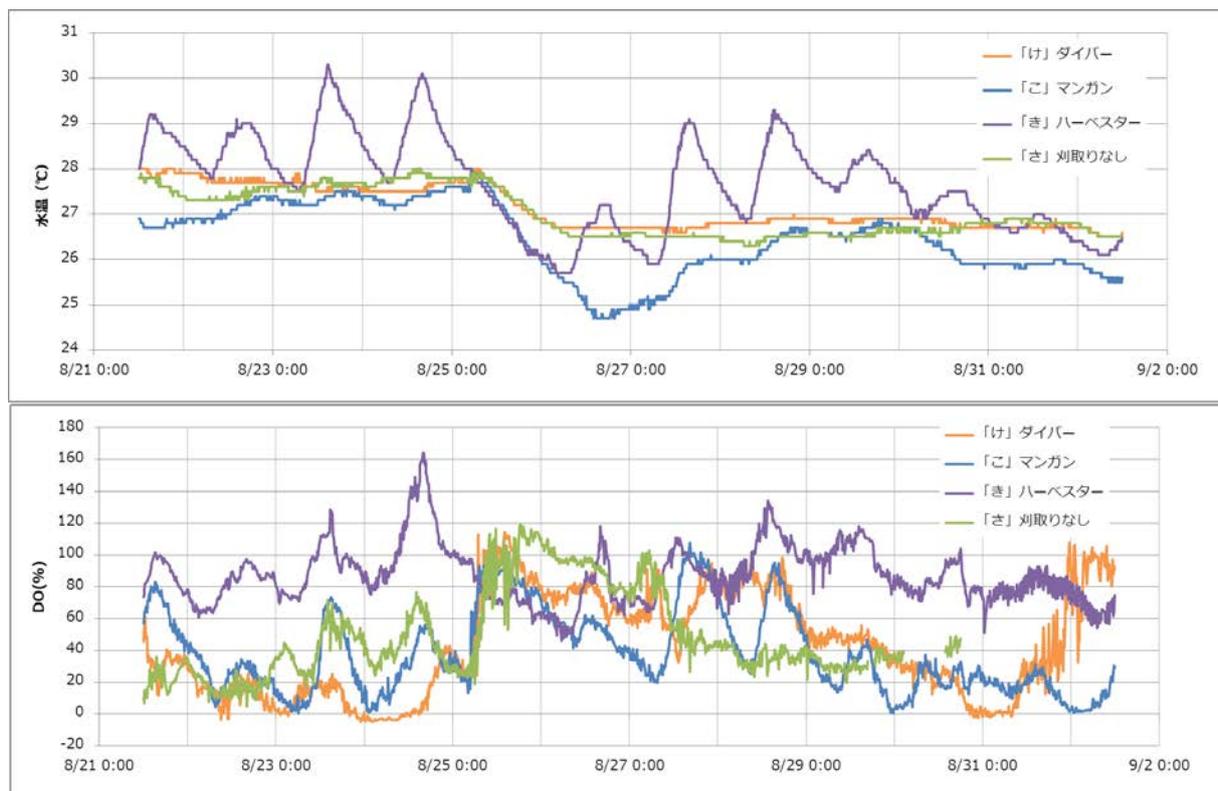
各実験区における湖底直上溶存酸素濃度の変化を図(1)-21 に示した。4月はいずれの処理区においても平均8.9 mg/L以上あり、酸素低下は見られなかった。7月はハーベスター区で平均7.2 mg/L、刈取なし区で平均4.3 mg/Lであったが、ダイバー区、マンガン区でそれぞれ平均0.6 mg/L、平均0.3 mg/Lと貧酸素状態になった。9月は地点ごとのばらつきが大きいものの、平均は2.5~3.3 mg/Lと処理区（刈取り方法の違い）による違いは認められなかった。10月は全体的に回復し、いずれの実験区も平均6.9 mg/L以上になった。

水草量に差がみられる7月の湖底直上溶存酸素濃度は、ハーベスター区が最も溶存酸素濃度が高かった（図(1)-21）。ハーベスターは広い範囲で表層の水草を刈取り、水草高を確実に下げるとともに（図(1)-20）、表層に水の動きをもたらしやすい。このことは、底層にも酸素を供給する効果があるものと考えられた。一方、同日のダイバー区およびマンガン区は著しい貧酸素状態であった。過去の研究では、琵琶湖南湖の同地区（際川～唐崎沖）においてマンガンによる水草除

去を行った後、湖底の溶存酸素濃度が回復した事例もあったが⁷⁾、その際は湖の中央部から水の通り道を作るような大規模な刈取・除去を行った。本実験では、地点の周囲のみの水草をスポットで刈取・除去し、地点の外側は刈取・除去を行わず、大量繁茂した状況であったことが関係しているのかもしれない。



図(1)-21 湖底直上溶存酸素濃度の変化



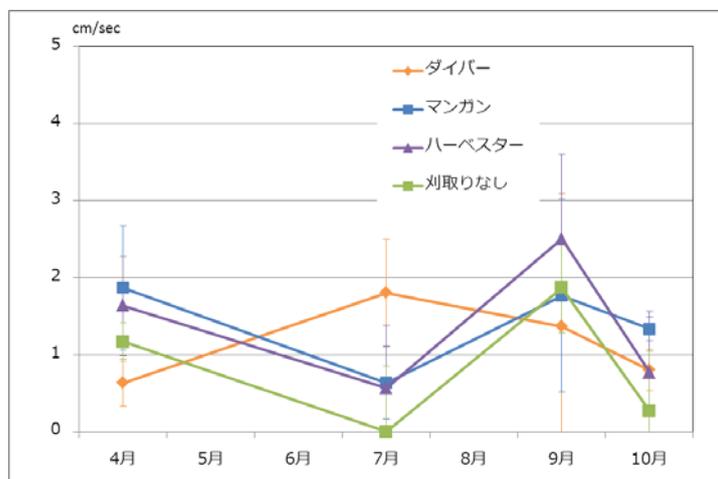
図(1)-22 係留系による湖底上50 cmにおける水温および溶存酸素飽和度(D0%)

さらに、係留系を用いた湖底上50 cmにおける水温および溶存酸素飽和度(D0%)の連続測定の結果を図(1)-22 に示した。水温の昼夜変化はハーベスター区で最も顕著にみられ、8月23、24日は、

日中30℃にまで上昇した。原因として、ハーベスター区のSt. きは、沿岸に最も近かったことが考えられた。いずれの実験区も、8月25日～27日に水温低下し8月30日には処理区毎の違いは1℃程度に小さくなった。

溶存酸素飽和度(DO%)は、いずれの実験区においても昼夜変化が見られた。ハーベスター区でのDO%が、測定期間を通して高い値を示した。ただし、ハーベスター区の測定定点(St. き)は水深が約2mで、最も水深が浅かった。8月25日にハーベスター区以外の処理区全てでDO%の上昇がみられたことから、昼夜変動より水塊の入れ替わりの方がDO%に大きな影響を与える可能性が伺われた(図(1)-22)。

これらの観測から、表層刈取りを行うハーベスターでも湖底の溶存酸素濃度を回復させることが可能であるが、湖底の溶存酸素を回復させる目的で水草除去を行う場合は、水塊が全体的に大きく動くように水の通り道をつくるような除去を行うことが重要で、スポット的に刈り取っても溶存酸素の回復効果は得られないことがわかった。



図(1)-23 ドップラー流向流速計(ADCP)を用いて測定した湖底付近の流速

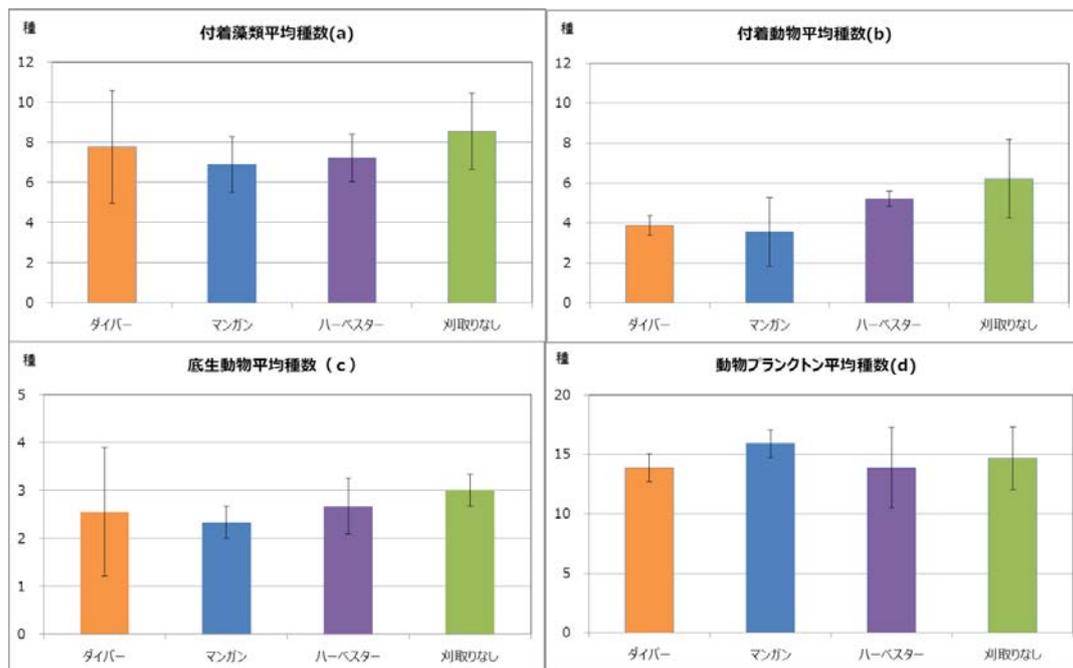
ドップラー流向流速計(ADCP)を用いて測定した湖底付近の流速を図(1)-23に示した。いずれの処理区も2.5 cm/secで極めて小さかった。過去の琵琶湖南湖における湖底直上酸素濃度と下層流速の関係から、4 cm/sec未満になると貧酸素水塊が形成されやすいことが知られている⁸⁾。

e 生物相への影響評価

各処理区における水草の付着藻類、付着動物、底生動物、動物プランクトンの種組成を調査し、種数(タクサ数)による評価を行うため、水草刈取り・除去を行った後の6月～10月の期間を平均し、図(1)-24に示した。

付着藻類は、合計で41種が出現し、各処理区における1回調査での出現種数は、平均6～9種であった。主な種類はクチビルケイソウ・リングビア・アオミドロ・サヤミドロ・ハリケイソウ等で、実験区による種数の違いは見られなかった。

付着動物は、合計16種が出現し、各処理区における1回調査での出現種数は、平均3～6種であった。主な種類は、ユスリカ・カイミジンコ・センチユウ・ミミズ・ミジンコ・トビケラ等で、実験区による種数の違いは見られなかった。



図(1)-24 水草刈取り・除去に伴う生物相 (6~10月の平均種数)

(a) 付着藻類、(b)付着動物、(c)底生動物、(d)動物プランクトン

底生動物は、合計13種が出現し、各処理区における1回調査での出現種数は、平均2~3種であった。主な種類は、ミミズ・ユスリカ・オトヒメトビケラ・センチュウ・シジミ（稚貝）、ヒル等で、実験区による種数の違いは見られなかった。

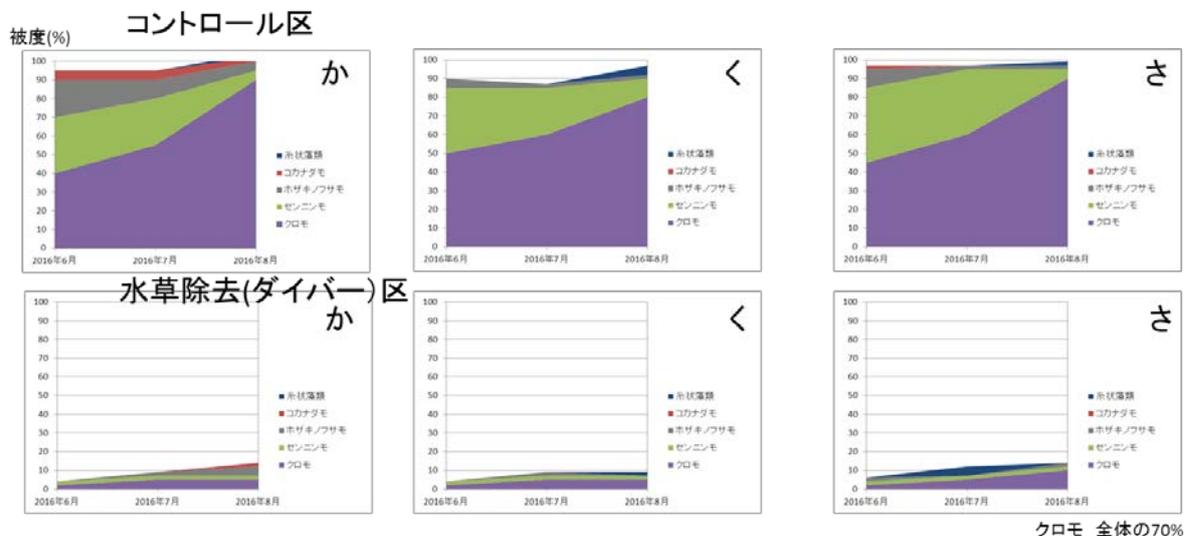
動物プランクトンは、合計54種（識別タイプも含む）が出現し、各処理区における1回調査での出現種数は、平均14~16種であった。主な分類群は、カイアシ類幼生（nauplius）、ネコゼミジンコ（*Ceriodaphnia* sp.）、ケンミジンコ（Cyclopoida）、ゾウミジンコ（*Bosmina longirostris*）、ドロワムシの一種（*Synchaeta stylata*）等で、処理区による種数の違いは見られなかった。

今回の生物調査では、付着藻類、付着動物、底生動物、動物プランクトンについて刈取り・除去方法の違いによる種数変化を調べたが、いずれも統計的に有意な変化は認められなかった。即ち、短期的には水草刈取り・除去が大きな種数の変化を生じさせることはないかと推察された。

2) 水草刈取り方法が水草群集組成に与える影響評価のための追加実験

2016年6月24日、7月22日、8月24日にそれぞれの区画において、ダイバーが水草の被度観察を行った。水草全体の被度は、コントロール区では、6~8月の期間、常に90%以上の高い割合で推移した。一方、水草除去区では5-12%と低い割合で推移した。コントロール区における優占種は、6月にはクロモとセンニンモであり、8月にはクロモが全体に占める割合が82%以上と高くなった（図(1)-25）。一方、水草除去区は、コントロール区と同様に6月にはクロモとセンニンモ（「さ」地点のみホザキノフサモを含む）が優占し、8月にはクロモが第一優占とはなったが、全体に占める割合は、いずれの区画も70%を超えることはなかった。この結果は、2015年度の実験結果で得られた、「コントロール区において第一優占種が全体の75%以上になりやすい」という事実と同様の結果であり、刈取り・除去をしないと純群落を形成しやすくなるという仮説を支持する結果とな

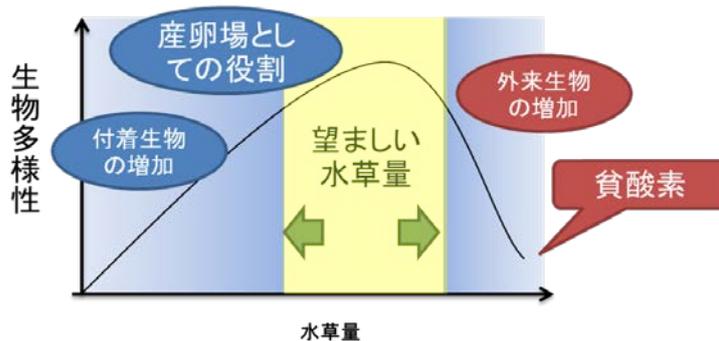
った。



図(1)-25 水草除去による水草種別被度の変化

(3)水草の適正な刈取り方法と刈取り量の管理基準策定

湖沼生態系が健全で、かつ、水草を持続的に利用するため、琵琶湖南湖において望ましい水草量について検討した。適正な水草量を決めるため、本研究ではこれまでの研究を参考に図(1)-26のようなコンセプトを仮定した。水域における水草量は多すぎても少なすぎても弊害を生じる。例えば、水草が多すぎると、湖水の停滞が生じ湖底の貧酸素化や富栄養化した湖沼ではアオコを発生させる。さらに、攪乱がなくなり侵略的外来生物が繁殖しやすい環境となる。一方、水草が全くないところでは、魚類の産卵や稚魚にとっての隠れ家を失い、また、水草に付着する生物を餌として捕食する動物が生息場を失うことになるため、生物多様性は低下するだろう。従って、水域環境において高い生物多様性を維持するためには適正な水草量の範囲が存在する。

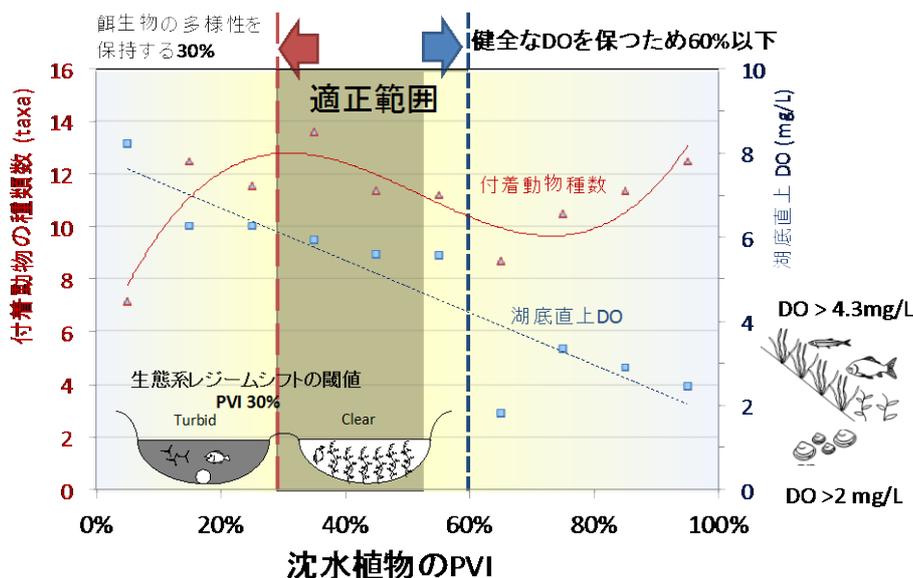


図(1)-26 水草量と生物多様性の関係のイメージ図 (仮定)

2014年9月に、図(1)-1に示した52地点にて南湖水草現存量調査の際に観測した水草PVIと湖底直上溶存酸素濃度(DO)の関係を図(1)-27に示した。水草PVIと湖底直上DOについては直線関係がみられた($R^2=0.82$, $n=10$)。南湖における魚類の生息に望ましいDOは約4.3 mg/L以上であり⁷⁾、これを基準とすると、これを満たす水草PVIは60%以下となる。従って、適正な水草量の上限値は

60%とすることができる。

一方、2015年に行った大規模野外実験において、D0の生物相への影響を見ると、付着動物では、水草を刈り取り、或いは除去すると種数の減少する傾向がみられた（図(1)-24）。そこで、2014年に南湖52地点の水草現存量調査で観測した各地点での水草PVIと付着動物の種数の関係についてみると、3次式で表され（ $R^2=0.75$, $n=10$ ）、付着動物種数は、PVIが30%付近までは増加するものの、それを上回ると減少傾向を示した（図(1)-27）。また、湖沼生態系がレジームシフトで植物プランクトンが優占する濁った系に至らない閾値の水草PVIが30%であるとの報告がある⁸⁾。付着動物の種数はPVIが60%を上回ると再び増加傾向を示すが、これは湖水面にでた水草に付着する動物に依存するものだった。これより、琵琶湖南湖における適正な水草量の下限値はPVIで30%とすることができる。ただし、レジームシフトの閾値は15-20%である場合もあり⁹⁾、湖沼および条件によって異なるため¹⁰⁾、将来的には調査データの集積と湖沼毎の閾値に合わせた下限値の調整が必要かもしれない。本研究結果は、生物種の多様性と湖底直上D0が適正な水草量を規定する際に良い基準になることを示すことができた。



図(1)-27 水草が占める容積割合（PVI）と湖底直上溶存酸素量（D0:□）

および付着動物種数（△）の関係（各値は水草PVIを10%毎に平均した値を用いた）

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

これまで予測が困難であった当該年度の水草成長に関して、モデルの構築により琵琶湖南湖の平均水草高の年最大値予測が可能となった。

付着動物の種多様性と湖底直上の溶存酸素濃度（底層D0）を用いて、適正な水草量を示すことができた。生物多様性と底層D0は適正な水草量を策定する際に良い基準を提供するだろう。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

滋賀県琵琶湖政策課が主催する水草対策チーム会議において、本研究成果である適正な水草量、水草成長モデル、刈取りによる水質・底質への影響を提示し、水草対策の方針決定に貢献した。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究成果で明らかになった水草刈取り・除去に伴う湖沼生態系への影響および有効利用方法についての知見は、「琵琶湖の保全及び再生に関する法律（平成27年法律第75号）」に基づき定められた「琵琶湖の保全及び再生に関する基本方針」2. 琵琶湖保全再生施策に関する基本的な事項 二. 水草の除去等 について、滋賀県琵琶湖環境部琵琶湖政策課が対応する水草刈取り・除去事業および水草等対策技術開発支援事業の実施に参考とされる。

本研究で得られた適正な水草量を推定するための基準は琵琶湖以外の同様の問題を抱える湖沼においても適応可能であり、水草の適性管理に貢献できる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

特に記載すべき事項はない。

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 石川可奈子、岡本高弘:環境技術, 44, 488-493(2015)

“水草繁茂と琵琶湖南湖の水質”

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) K. Ishikawa: UNESCO-IHPⅧ Theme3 International Scientific Symposium on Scientific, Technological and Policy Innovations for Improved Water Quality Monitoring in the Post-2015 SDGs Framework, Japan, 2015
“Ecological Regime Shift in the South Basin of Lake Biwa: focus on algal blooms and submerged macrophyte overgrowth”
- 2) K. Ishikawa, H. Haga, E. Inoue, S. Ban: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Sustainable harvesting of submerged macrophytes to benefit ecosystem health and biodiversity”
- 3) K. Ishikawa, H. Haga, E. Inoue and S. Ban: World Lake Conference 16th, Indonesia, 2016

“The basis for guidelines control submerged macrophyte overgrowth to benefit ecosystem health and biodiversity”

- 4) 石川可奈子、芳賀裕樹、井上栄壮、永田貴丸、岡本高弘、岩木真穂、伴修平：平成29年度日本水産学会春季大会（2017）
「ロジスティック曲線による沈水植物成長モデル」

（3）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（4）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 滋賀大附属中学校の総合学習での特別授業 「水草問題と水草管理の手法の研究成果にもとづいて生態系管理の実情」（2015年9月7日、聴講者 約30名）
- 2) 滋賀県野洲市社会福祉協議会への市民講座 「琵琶湖の水草の現状と生物多様性保全について」（2015年7月7日 聴講者 約30名）
- 3) 滋賀県公明党議員団への研究成果紹介と課題解決に向けての対話（2015年2月5日、聴講者 約30名）
- 4) 滋賀県自民党議員団への研究成果紹介と課題解決に向けての対話（2015年7月27日、聴講者 約40名）

（5）マスコミ等への公表・報道等

- 1) 京都新聞（2016年9月8日、滋賀版、1頁、「琵琶湖の水草、適正量は30～60%」）
- 2) びわ湖放送（2016年12月3日 特別番組「第16回世界湖沼会議」において水草管理の研究成果の取材と発表が5分程度放映）

（6）その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) 芳賀 裕樹，大塚 泰介，松田 征也，芦谷 美奈子：陸水学雑誌，67，69-79（2006）
2002年夏の琵琶湖南湖における沈水植物の現存量と種組成の場所による違い
- 2) 芳賀裕樹，石川可奈子：陸水学雑誌，72，83-90（2011）
2007年夏の琵琶湖南湖における沈水植物の現存量分布および2002年との比較
- 3) 芳賀裕樹，石川可奈子：2012年夏の琵琶湖南湖における沈水植物の現存量分布ならびに2002,2007年との比較 陸水学雑誌，75，107-111（2014）
- 4) 大塚泰介，桑原泰典，芳賀裕樹：陸水学雑誌，67，69-79（2004）
琵琶湖南湖における沈水植物群落の分布および現存量－魚群探知機を用いた推定－
- 5) H. Haga: Lake Biwa: Interactions between Nature and People. Springer, New York, pp175-178（2011）
Long-term changes of submerged macrophytes in the south basin of Lake Biwa

- 6) 芳賀裕樹, 石川可奈子: 陸水学雑誌, 77, 55-64 (2016)
琵琶湖南湖における 2014 年夏の沈水植物の現存量分布ならびに 2002, 2007, 2012 年との比較
- 7) 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター: 南湖生態系の順応的管理に関するサイエンスレポート
2015 年 (ISSN 1882-8612)
- 8) D. E. Jr. Canfield, J. W. Shireman, D. E. Colle, W. T. Haller, C. E. Watkins II, M. J. Maceina: Can. J. Fish. Aquat. Sci., 41, 497-501 (1984)
Prediction of chlorophyll *a* concentrations in Florida lakes: importance of aquatic macrophytes
- 9) P. Schriver, J. Bøgestrand, E. Jeppesen & M. Søndergaard: Freshwat. Biol., 33, 255-270 (1995)
Impact of submerged macrophytes on fish-zooplankton-phytoplankton interactions: large-scale enclosure experiments in a shallow eutropic lake.
- 10) E. Jeppesen, M. Søndergaard, M. Søndergaard & K. Christoffersen: The structuring role of submerged macrophytes in lakes Springer, New York (1998)

(2) 水草の刈り取りが湖沼の水質及び底質に与える影響の評価

国立研究開発法人国立環境研究所

地域環境研究センター	副センター長	今井章雄
地域環境研究センター湖沼・河川環境研究室	室長	高津文人
地域環境研究センター湖沼・河川環境研究室	主任研究員	小松一弘

平成26(開始年度)～28年度累計予算額：19,448,000円（うち平成28年度：5,648,000円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

水草刈り取りの影響を刈り取り時の底泥巻き上げの影響（直接影響）と刈り取ることによる湖底の水草堆積物量の低下が底泥からの溶出に及ぼす影響（間接影響）に分けて評価した。直接影響に関しては、高濃度のアルカリ土類金属とFeイオンと各種無機態窒素が湖水柱へ放出され、濃度を一時的に高める可能性のあることが分かった。一方、間接影響に関しては、水草堆積物の少ない刈り取り区では、分解が速く進み、pHが低下しやすく、底泥間隙水中により高濃度でアルカリ土類金属が蓄積するため、アルカリ土類金属の底泥からの溶出は促進されやすい。このことから、水草刈り取りは直接・間接影響ともに湖水柱のアルカリ土類金属濃度を上昇させることにつながると結論付けた。一方、底泥表層が嫌氣的になった場合には、間接効果としてマンガン(Mn)、鉄(Fe)、ヒ素(As)イオンの底泥からの溶出を抑制することが明らかとなった。

水草刈り取りの湖水水質への影響としては、アルカリ土類金属の濃度上昇が最も危惧されると考えられる。アルカリ土類金属は自然界に比較的高濃度で存在し、毒性もほとんどないと考えられるが、その濃度上昇は湖水のアルカリ度を上昇させることから、大気と湖水の炭酸ガスのバランスを変化させることとなる。具体的には炭酸ガスの気液平衡を想定した場合、より高いpHで平衡が成り立つことになる。琵琶湖南湖の水草帯では、夏季の昼間、pHが9.5を上回ることも珍しくなく、そうした極端な高pH環境が湖水環境へ悪影響や浄水処理でのコスト増を将来引き起こす可能性が高い。以上の結果から考えると、湖底を採集器具で直接攪乱しないハーベスターによる刈り取り方法の方が、湖底を攪乱するマンガン刈り取りより優れた方法と言える。しかし、ハーベスターでも水草の上部を巻き取るように回収する際に、水草下部や底泥中の植物体に力が伝わり、底泥攪乱につながるようなことが頻繁にあるのなら、これを改良する必要があるだろう。

[キーワード]

底泥溶出、水草堆積物、底泥間隙水、酸化還元環境、溶存酸素

1. はじめに

水草資源を利用するにあたっては、水草刈り取りという人為影響を湖沼生態系に与えることが前提条件となるが、水草刈り取りの影響は多岐にわたり、その水質および底質環境への影響評価

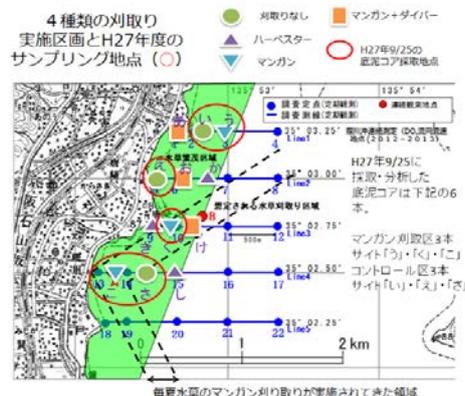
手法の開発を行うことは極めて重要である。本サブテーマでは、水草刈り取り影響を刈り取り時の直接影響と刈り取り後長期間にわたり影響する間接影響の2つに分けて評価する方法を考案し、その評価結果をもとに最適な水草刈り取り方法と刈り取り量への提言を行った。

2. 研究開発目的

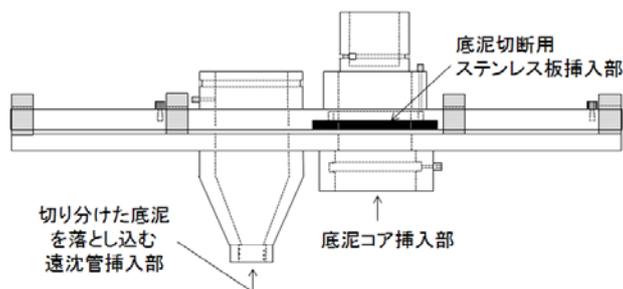
本サブテーマは、水草刈り取りの水質および底質環境への直接・間接影響を評価することで、最適な水草刈り取り方法と刈り取り量への提言を行うことを目標とした。直接影響に関しては、底泥間隙水中の深度方向の濃度勾配から、水草刈り取り時の底泥表層を物理的に攪乱することによる、栄養塩や金属イオン等の溶出フラックスの違いに着目した。間接影響に関しては、水草刈り取りが湖底への水草の堆積量を減らすことに着目し、水草堆積物量の異なる底泥コアについて調べ、底泥表層における間隙水中のイオン濃度の鉛直勾配を比較した。こうして得られた直接影響と間接影響の結果を考慮し、最適な水草刈り取り方法と刈り取り量に関する提言を行った。

3. 研究開発方法

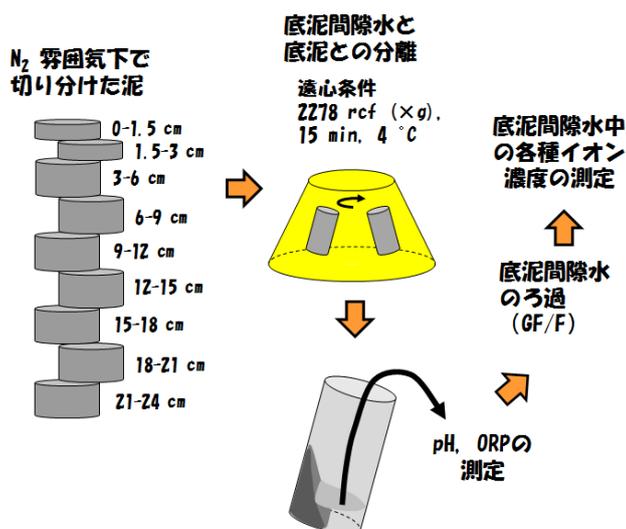
水草の刈り取り影響を調査するにあたって、近年毎年水草のマンガンによる刈り取りが実施されてきた水域（マンガン刈取区：図(2)-1のサイト「う」・「く」・「こ」）と実施されていない水域（コントロール区：図(2)-1のサイト「い」・「え」・「さ」）の各3か所で1本ずつの計6本の底泥コア採取を行い、底泥間隙水の水質を比較することで、マンガン刈り取りが底泥からの金属イオン等の溶出フラックスに与える影響を評価した。



図(2)-1 分析した底泥コアの採取地点6カ所



図(2)-2 窒素素囲気下での底泥コア深度ごと切り分け装置



図(2)-3 底泥間隙水の水質分析の前処理手順

底泥コアの採取は不攪乱柱状採泥器（HR型RIG0社）によりH27年の6月23日と9月25日の2回行った。底泥コアは内径11 cmで高さ57 cmのアクリルチューブにて採取した。採泥は図(2)-1の赤丸で囲った6か所で行った。マンガン刈取区3地点のうち、サイト「く」と「こ」は毎年夏季に定期的にマンガンによる水草刈り取りが実施されてきた領域（図(2)-1中の点線で囲まれた領域）であり、サイト「う」は本プロジェクト開始に合わせてマンガン刈り取りを行ったサイトである。採取した底泥コアは冷蔵保存で実験室に持ち帰り分析に供した。持ち帰った底泥コアは、窒素雰囲気下で、図(2)-2の切り分け装置により深度ごとに切り分け、図(2)-3の手順に従って遠心により間隙水を抽出し、各種水質分析に供した。

実施した水質分析項目は以下の4種類である。ただし、水質項目2)と4)に関しては、野外で採取した底泥コアに加えて、下記に記述する、底泥コア培養実験（嫌気1週間培養と微好気⇄好気切り替え実験）の直上水に関しても行った。

- 1) 抽出直後に測定：間隙水の酸化還元電位（ORP）とpH
- 2) イオンクロマトによる各種イオン成分の濃度
 アニオン： SO_4^{2-} , NO_3^- , PO_4^{3-}
 カチオン： NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ほか
- 3) サイズ排除クロマトによる溶存有機物の平均分子量
 TOC検出器による測定
- 4) 各種溶存金属イオンの濃度
 誘導結合プラズマ発光分光分析およびICP-MSによる測定

pHとORPは抽出直後にpH/ORP計（KP-10Z, KRK）を使用し、遠心直後の未ろ過の底泥間隙水にセンサー先端部分を浸し測定した。イオンクロマトによる各種イオン成分の濃度の分析はDionex IC25 Ion Chromatographにより測定した。測定条件は下記の通りであった。

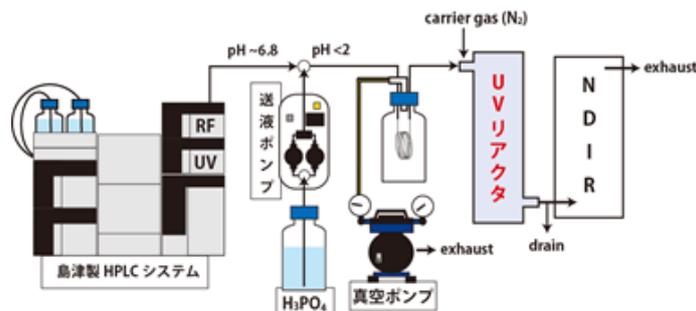
カラム：カチオン Dionex IonPac CS12A

アニオン Dionex IonPac AS17-C

溶離液：カチオン 20 mM メタンスルホン酸（アイソクラティック）

アニオン 水酸化カリウム（グラジエント）

サイズ排除クロマトによる溶存有機物の平均分子量は、島津製作所製HPLCシステムに自作の全有機体炭素(TOC)検出器を連結したTOC-SECシステム（図(2)-4）で測定した。分離カラムは東ソーのTSKgel-G3000SWXLとguardcolumnSWXLを連結して使用した。溶離液はリン酸Na緩衝液（pH 6.8, イオン強度100 mM）, 分子量校正にはポリスチレンスルホン酸Naポリマーをそれぞれ使用した。



図(2)-4 TOC-SECシステムの概要

平均分子量は、分子量ごとのUV吸収能もしくはTOC濃度で分子量を加重平均した値として算出した。

各種金属イオン濃度の測定に関しては、誘導結合プラズマ発光分光分析（ICP-AES: 61E-Trace）およびICP-MS（Agilent8800; Agilent）により、0.13 Mの硝酸可溶成分を対象に行った。測定した金属イオン等の種類は以下のものである。

測定金属イオン等：Al, Ca, Mg, Sr, Fe, Si, Mn, P, As, Cu, S, Znの12種類

上記のように、野外から採取した底泥コアを実験室ですみやかに処理したものを対象に測定・解析を行った研究に加えて、マンガン刈取区「こ」とコントロール区「さ」では、下記のような貧酸素条件下に置いた時の溶出試験を行った。内径1.3 cmの採泥用ガラスバイアルで、底泥表面から深度7cm付近までの泥を採取し、その上から孔径0.2 μmのメンブレンフィルターでろ過した現場の直上水を加え、ブチルゴム栓で密閉し、1週間静置培養することで、直上水中の溶存酸素が無くなった際に底泥から各種金属イオンが溶出速度を評価した（図(2)-5）。直上水中の溶存酸素濃度はDO測定用センサーチップ（PreSens社製、図(2)-5のピンク色部分）をガラスバイアルの内側から貼り付けて、蛍光式酸素センサーFibox3（PreSens社製）で測定することで、1日程度でほぼ0 ppmになることを確認した¹⁾。



図(2)-5 嫌気条件下での底泥溶出評価（培養期間：一週間、室温下）

底泥間隙水中の栄養塩や金属イオン等の表層付近の深度方向の濃度勾配の増減から、こうしたイオン等の底泥溶出フラックスに関する知見を得ることができる。実際の拡散による溶出フラックスは下記の式により算出される。

$$\text{拡散フラックス} = \text{拡散係数} \times \text{含水率} \times \text{表層付近の濃度勾配}$$

本研究では、2度の調査におけるマンガン刈取区とコントロール区の表層付近（今回は6 cm以浅）の濃度勾配を比較することで、刈取操作が好氣的環境下における拡散溶出フラックスにどのように影響するかを解析した。解析に供した2度の試料は、H26年度の10月28日とH27年度の6月23日に行った調査で得られたものである。2度の調査結果が一致する場合には、刈取操作が拡散溶出フラックスに与えた影響を「抑制：拡散溶出フラックスを低減させる」もしくは「促進：拡散溶出フラックスを増加させる」のいずれかに分類した。一方、2度の調査結果が一致しない場合には、刈取操作の影響を「不明」とした。

一方、水草帯の底層D0（底泥表層近くの湖水柱の溶存酸素濃度）は2 ppm付近まで低下することが、3.5ヵ月間に及ぶ調査地周辺での底層D0のモニタリングから明らかとなっている。貧酸素環境下では、鉄やマンガンといった金属イオンは顕著に溶出しやすくなる性質があり、先述したように無酸素条件下で直上水にどういった金属イオン等が集積するかでその溶出フラックスを解析した。実際の無酸素条件下での溶出フラックスは、底泥を入れずにろ過した直上水のみを密封したガラスバイアル中の1週間後の濃度をコントロール濃度とした場合、下記の式により導出した。

$$\text{溶出量} = (\text{培養後の濃度} - \text{コントロール濃度}) \times (\text{直上水量} \div \text{底泥面積})$$

無酸素条件下での溶出フラックスの解析に供した試料はそれぞれ、H27年の6月23日と9月25日に行った調査で採取した。2度の調査結果が一致する場合には、刈取操作が拡散溶出フラックスに与えた影響を「抑制」もしくは「促進」のいずれかに分類した。一方、2度の調査結果が一致しない場合には、刈取操作の影響を「不明」とした。マンガン刈取区とコントロール区の溶出量の違いに関しては、6月23日の試料については、それぞれ1本ずつ採泥した大口径コアから採取した5本のガラスバイアルを作り、その結果の違いをt-testにより判定した。一方、9月25日の試料に関しては、各処理区2本ずつ採泥した大口径コアのそれぞれから採取した3本×2の計6本のガラスバイアルをつくり、その結果の違いをt-testにより判定した。t-testで有意差ありとならなかった場合には、結果表の中に「≒」と表記し、有意差の検出された場合には、不等記号「>」を用いて、溶出量の大きかった処理区を示した。

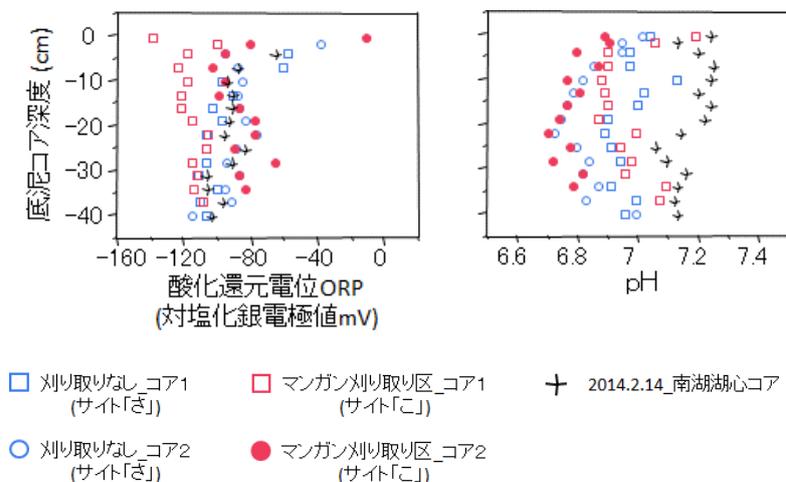
4. 結果及び考察

(2) 水草の刈り取りが湖沼の水質及び底質に与える影響の評価

1) マンガン刈り取り区とコントロール区の底泥コアの間隙水中の水質特性

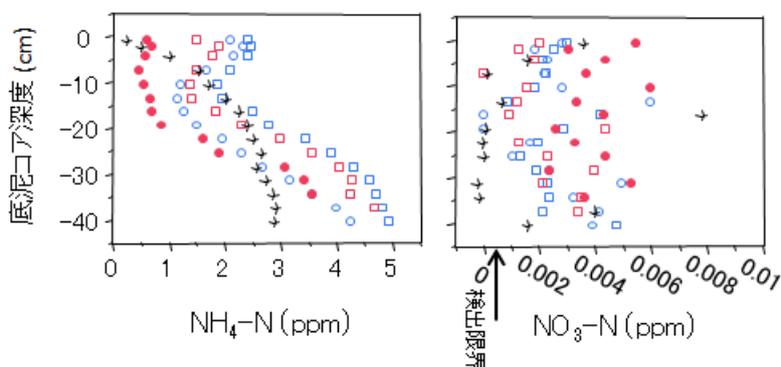
2016年10月におけるマンガン刈り取り区とコントロールの底泥間隙水のpH、ORPは大きく異なっていない。どちらの底泥コアに関しても、pHは表層では7-7.2で、表層から20-30 cmのあた

りて6.7-7の極小値となる傾向を示した。一方、ORPは、表層では比較的高いものの、表層の10 cmで急激に低下し、その後は-100 mV前後で推移していた（図(2)-6）。



図(2)-6 マンガン刈り取り区とコントロール区の底泥コアの間隙水中のpHおよびORP

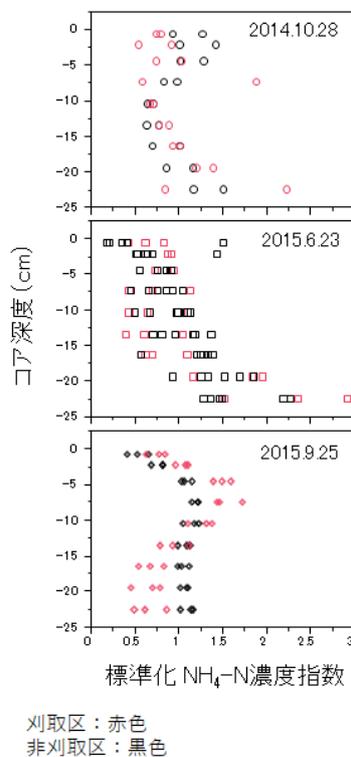
一方、栄養塩類濃度に関しても、表層から深層にかけて大きな濃度変化はあるものの、2016年10月における刈り取り区とコントロール区では大きな違いは見られなかった。アンモニウム態窒素は20 cm以深で濃度が急激に増大した。また、底泥表層付近では深くなるにつれて濃度が減る場合とそうでない



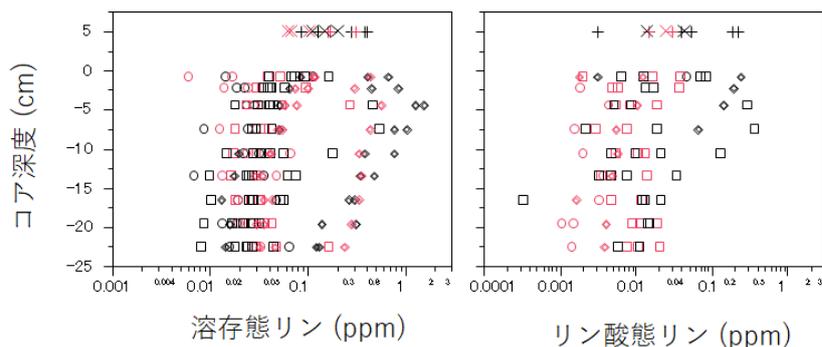
図(2)-7 刈り取り区とコントロール区の底泥コアの間隙水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度

場合があり、表層付近での有機態窒素の分解活性や硝化活性などがコア間で大きく異なることが推察された（図(2)-7）。アンモニウム態窒素に関しては、他2回分（2015年6月と9月）についてもまとめた結果を図(2)-8に示す。各サンプリング時の底泥コア間の違いを標準化するため、全層のアンモニウム態窒素濃度で除することで標準化アンモニウム態イオン濃度指数を作成し、サンプリング間の違いを分かりやすく示した。2014年10月の時には表層から10 cmから15 cmのところに濃度の極小値があるように見える。一方、2015年6月の時には15 cm以深で急激な濃度上昇がみられるものの、それより浅い間隙水の有意な濃度変化は見られなかった。さらに、2015年9月では、5-10 cmの深度に濃度の極大値が見られ、アンモニウムイオンの底泥から湖水への濃度拡散が大きくなっていったと推察された。

リン酸態リンおよび有機態も含む溶存態リンの底泥間隙水中の濃度プロファイルを図(2)-9に示す。両形態ともに濃度は 1 mgL^{-1} 以下であり、深度に沿った顕著な濃度変化は見られなかった。アンモニウム態窒素が蓄積する20 cm以深の間隙水中にも、リン酸態リンが蓄積していないことから、琵琶湖の底泥は嫌気化に伴うリンの溶出が起こりにくい形態で固相に蓄積していると推察された。



図(2)-8 標準化したアンモニウム態窒素濃度の底泥間隙水中の垂直プロファイル



図(2)-9 リン酸態Pと溶存態P濃度の底泥間隙水中の垂直プロファイル

2014年10月と2015年6月の底泥コアを対象に解析した結果、金属イオンの濃度に関しては、深度方向に大きな変化の見られたのは、アルカリ土類金属のカルシウム (Ca) , マグネシウム (Mg) , ストロンチウム (Sr) であり、それ以外では鉄 (Fe) イオンと銅 (Cu) イオンであった。底泥間隙水中のこうしたイオン濃度に影響を与える因子を解析するため、重相関分析を行った結果、深度そのものというより、もっとも強い影響を与える因子はpHであることが分かった (表(2)-1)。

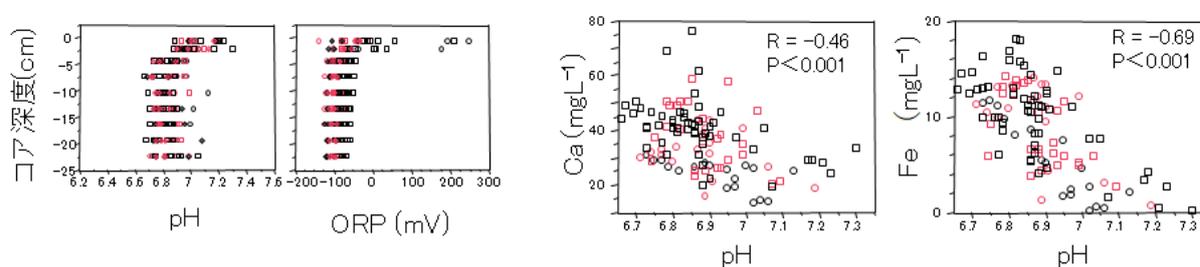
図(2)-10に示す通り、アルカリ土類金属の濃度はpH低下に伴い有意に濃度が上昇した。またFeイオンもpHの強い負の相関を示した。

表(2)-1 底泥間隙水中の金属イオン濃度に影響を及ぼす環境因子

ステップワイズ法による重相関分析の結果

	Ca	Mg	Sr	Fe	Cu
pH	** -22.8	* -2.2	** -0.07	*** -20.7	*** 0.008
ORP	* -0.035	** -0.006	* -0.0001	-0.01	n.s.
Depth in core	* -0.33	-0.022	** -0.001	-0.09	n.s.

N = 117, 0.01 < P* < 0.05, 0.001 < P** < 0.01, P*** < 0.001



図(2)-10 2014年10月と2015年6月の底泥間隙水中のpH、ORPとCaとFeイオンの濃度プロファイル

2) 好気的環境下における底泥からの拡散溶出フラックスに刈取操作が与える影響

底泥からの溶出フラックスがプラスであった金属イオン等の結果を図(2)-11に示した。CaやMgやSrイオンの拡散による溶出フラックスは刈取区で促進されることが分かった。他の条件が同じであれば、

数10%以上の促進の程度であった。Mnイオンの溶出フラックスも刈取区で促進されるが、その程度は2014年10月28日では、数10%程度であったが、2015年6月23日では20倍程度と大きく異なっていた。一方、アルミニウム (Al) イオンは刈取区で低下していた。また、Feやケイ素 (Si) イオンに関しては2回の調査で結果が一致しておらず、刈り取りの効果は不明であった。

底泥からの溶出フラックスがマイナスもしくは一定しない金属イオン等の結果を図(2)-12に示した。フラックスがマイナスであった溶存イオン (S) は刈取区でより大きなマイナスの濃度勾配を示すことから、底泥からの拡散による溶出フラックスという点から言えば抑制的に働くことが明らかとなった。また、リン (P) やCuイオンに関しては、刈り取りの効果は溶出フラックスに抑制的に働くことが分かった。一方、溶存鉛 (Zn) やヒ素 (As) に関しては、刈り取りの効果は一定しておらず、不明であった。その他、各種窒素栄養についても刈り取り区とコントロール区の違いは明確でなく、刈り取りの効果は不明であった。

底泥からの溶出フラックスがプラスであった金属イオン等

金属イオン等	Al	Ca	Mg	Sr	Fe	Si	Mn
2014.10.28 上段:非刈取区の濃度勾配(ppm/cm) 下段:刈取区の濃度勾配(ppm/cm)	0.010 ▽	2.23 △	0.369 △	0.0068 △	1.24 △	1.364 △	0.286 △
	0.0056	3.34	0.507	0.0114	2.47	2.104	0.322
2015.6.23 上段:非刈取区の濃度勾配(ppm/cm) 下段:刈取区の濃度勾配(ppm/cm)	0.0084 ▽	3.668 △	0.428 △	0.0104 △	2.108 ▽	2.52 ▽	0.0108 △
	0.0068	4.60	0.599	0.014	1.609	1.847	0.234
刈取りの効果	抑制	促進	促進	促進	不明	不明	促進

図(2)-11 好気的環境下での溶出フラックスへの刈取り操作の影響評価(その1)

金属イオン等	底泥からの溶出フラックスがマイナスの金属イオン等		底泥からの溶出フラックスの方向が一定しない金属イオン等			
	S		P	Zn	As	Cu
2014.10.28 上段:非刈取区の濃度勾配(ppm/cm) 下段:刈取区の濃度勾配(ppm/cm)	-0.459 ▽		0.0072 ▽	0.0101 ▽	-0.0023 ▽	0.000084 ▽
	-0.484		0.0042	0.0025	-0.0027	-0.000062
2015.6.23 上段:非刈取区の濃度勾配(ppm/cm) 下段:刈取区の濃度勾配(ppm/cm)	-0.0638 ▽		0.0145 ▽	-0.0023 △	0.0011 △	-0.00012 ▽
	-0.0646		-0.0197	0.0026	0.0014	-0.00034
刈取りの効果	抑制		抑制	不明	不明	抑制

図(2)-12 好気的環境下での溶出フラックスへの刈取り操作の影響評価(その2)

3) 嫌気的環境下における底泥からの拡散溶出フラックスに刈取操作が与える影響

嫌気的環境下での底泥からの溶出フラックスに関しては、前節の研究開発方法で記載した通りであり、全8種類の金属イオン等の底泥からの溶出フラックスへの影響を評価した。その結果、Fe、Mn、Asに関しては、刈り取ることで溶出フラックスが低減することが明らかとなった(図(2)-13)。それ以外の5種類の元素に関しては、一貫した傾向がみとめられず、刈り取り影響は不明であった。Pに関しては2015年9月25日には刈り取り区で大幅に溶出フラックスの増加傾向が認められたにも関わらず、2015年6月23日にはそうした傾向は認められなかった。

金属 イオン等	Al	Mg	P	S	Mn	Fe	Zn	As
	2015.6.23 上段: 非刈取区の 溶出量 (mg/m ²) 下段: 刈取区の 溶出量 (mg/m ²)	0.352 ≒ 0.324	49.23 ≒ 50.30	32.93 ≒ 32.63	-91.89 ∧ -64.74	144.7 ∨ 45.6	27.77 ∨ 11.77	-0.381 ∨ -1.80
2015.9.25 上段: 非刈取区の 溶出量 (mg/m ²) 下段: 刈取区の 溶出量 (mg/m ²)	0.200 ≒ 0.146	64.38 ≒ 101.6	28.71 ∧ 41.82	-140 ≒ -133.3	18.11 ∨ 13.14	321.3 ∨ 193.8	-0.447 ≒ -0.423	0.734 ∨ 0.413
刈取りの 効果	ナシ	ナシ	時々 促進	時々 促進	抑制	抑制	時々 抑制	抑制

図(2)-13 嫌気的環境下での溶出フラックスへの刈取り操作の影響評価

4) 底泥からの拡散溶出フラックスに刈取操作が与える影響についての考察

好気的環境および嫌気的環境の両環境における刈取操作が与える影響評価結果を図(2)-14にまとめた。



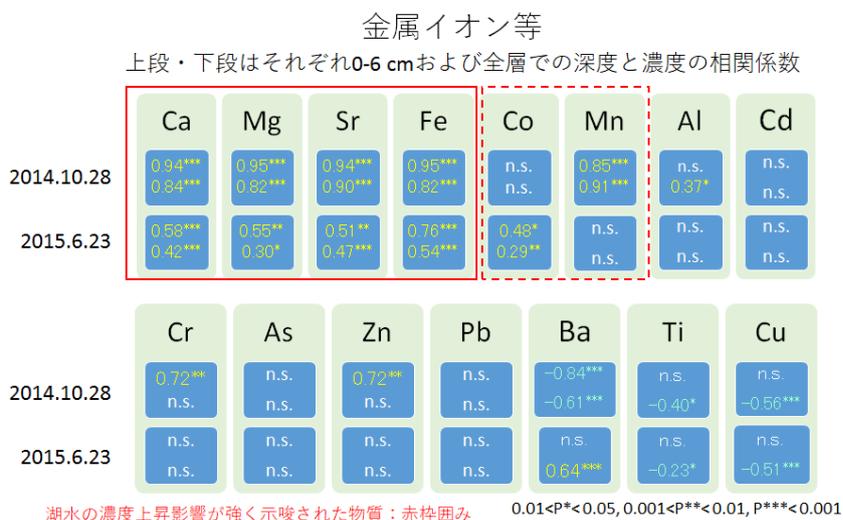
図(2)-14 好気的・嫌気的環境下での溶出フラックスへの刈取り操作の影響のまとめ

この結果から言えることは以下の3点と考えられた。

- 好気的環境では、アルカリ土類金属類(Ca, Sr, Mg)とMnの溶出が刈取区で促進されるが、これは分解活性が高くpH低下しやすい刈取区の特徴と関連している。一方、リンの溶出は刈取区で抑制された。
- 嫌気的な条件では、重金属類(Mn, Fe, As)の溶出が刈取区で抑制された。その詳細な理由は不明だが、DOMの鉄錯化能の違いが関係している可能性がある。
- 刈取りは水草帯で貧酸素水塊が出現した際には重金属類の溶出を抑制する働きがあり、通常時も光合成を律速しているリンの溶出を抑えることから、湖水環境を改善する働きがあると言える。

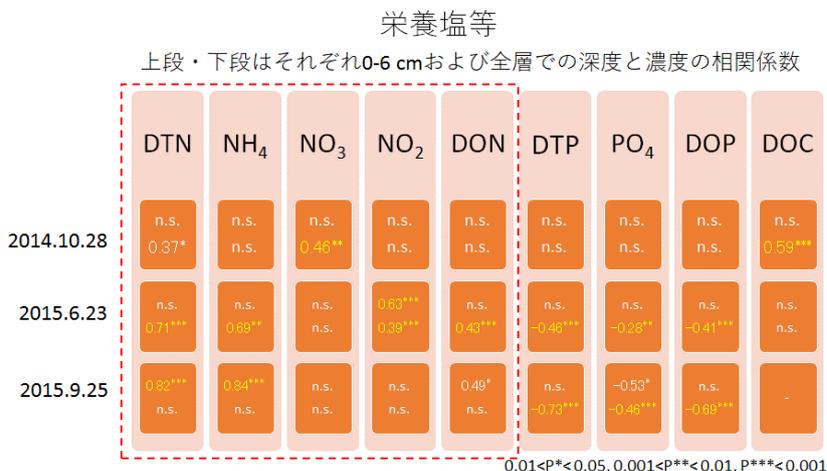
5) 水草刈り取り時の底泥巻き上げが湖水の水質に及ぼす影響

(2) - 3) の節でのまとめは、水草刈り取りが水草堆積物を減らすことで底泥からの栄養塩や金属イオンの溶出にどういった違いをもたらすかを解析した。一方、底泥巻き上げは底泥表層の間隙水中の栄養塩や金属イオンを湖水柱へと放出する。こうした現象により湖水柱のイオン濃度が一時的に上昇する可能性は高い。霞ヶ浦底泥表層を人為的に攪乱した場合にアンモニウムイオン等の濃度が有意に上昇したとの報告もなされている²⁾。濃度上昇のリスクの高いイオンは、底泥表層から深度方向に底泥間隙水中の濃度が急激に上昇するイオンであることから、マンガン刈り取り時に爪が底泥に食い込む深さとして一般に考えられている5 cmを参考に、0-6 cmの底泥間隙水を対象に、深度と濃度の間に有意な相関のあるイオンを特定した。金属イオンに関しては、図(2)-15にまとめたように、アルカリ土類金属とFeイオンがサンプリング時期に関わらずそうしたリスクの高いイオンと考えられた。



図(2)-15 マンガンによる水草刈り取り時に湖水柱の濃度上昇リスクの高い金属イオン

一方、栄養塩類についても同様の解析を行った結果、各種無機態窒素や有機態窒素で湖水柱の濃度上昇リスクとなるような有意な濃度変化が底泥間隙水中で見られた(図(2)-16)。



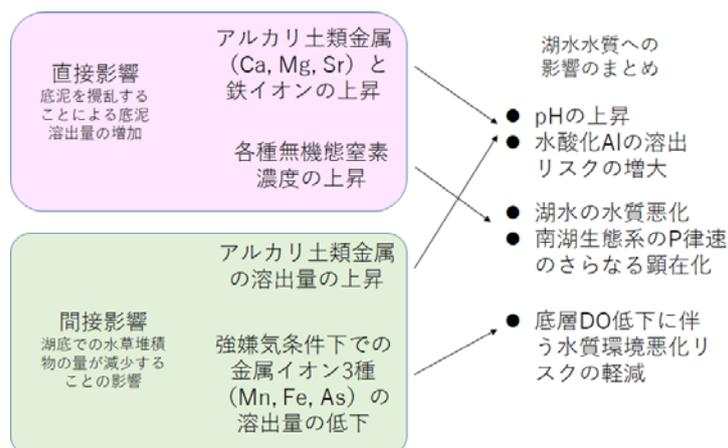
図(2)-16 マンガンによる水草刈り取り時に湖水柱の濃度上昇リスクの高い栄養塩

このことから、水草刈り取りは一時的に湖水の窒素環境を悪化させる可能性がある。しかしながら、リンに関していえば、無機態、有機態ともにリスクとなるような濃度変化を示してはおらず、こうしたリスクは低いと判断できた。

6) 水草刈り取りが底泥から湖水への栄養塩や各種金属イオン等の溶出影響

以上の結果をまとめるにあたって、水草刈り取りの影響を刈り取り時の底泥巻き上げの直接影響と刈り取ることによる湖底の水草堆積物量の低下が底泥溶出に及ぼす影響（間接影響）を分けて考えることとする。直接影響に関しては、高濃度のアルカリ土類金属とFeイオンと各種窒素栄養が湖水柱へ放出され、濃度を一時的に高める可能性のあることが分かった（図(2)-15, 16）。一方、間接影響に関しては、水草堆積物の少ない刈り取り区では、分解が良く進み、pHが低下しやすく、底泥間隙水中により高濃度で蓄積するため、アルカリ土類金属の底泥溶出は刈り取り区の方で促進されやすい（図(2)-14）。このことから、水草刈り取りは直接・間接影響ともに湖水柱のアルカリ土類金属濃度を上昇させることにつながると結論付けることができた。

一方、底泥表層が嫌氣的になった場合には、Mn, Fe, Asイオンの底泥溶出を抑制するという一面も間接効果として持ち合わせていることが明らかとなった。以上の結果をまとめると、図(2)-17のようになる。



図(2)-17 水草刈り取りの湖水水質への影響のまとめ

水草刈り取りの湖水水質への影響としては、アルカリ土類金属の濃度上昇が最も危惧されると考えられる。アルカリ土類金属は自然界に比較的高濃度で存在し、毒性もほとんどないと考えられるが、その濃度上昇は湖水のアルカリ度を上昇させることから、大気と湖水の炭酸ガスのバランスを変化させる。具体的には炭酸ガスの気液平衡を想定した場合、アルカリ度が上昇することで、湖水柱の溶存無機炭素濃度が上がった分、より高いpHで平衡が成り立つことになる³⁾。琵琶湖南湖の水草帯では、夏季の昼間、pHが9.5を上回ることも珍しくなく、そうした極端な高pH環境が湖水環境へ悪影響を及ぼす可能性はある。しかしながら、一方で、嫌気環境下で溶出するMn, Fe, Asといったイオンの溶出量は刈り取り区で軽減されることが示された。実際に南湖の水草帯では貧酸素環境が観察されており、そうした状況での水質悪化のリスクが低減されることを意味している。

7) 湖水水質への悪影響を抑えた最適な水草刈り取り方法についての提言

水草を刈り取ることは、湖水の循環を促進し、長期的には貧酸素となるリスクを低減することから、湖水環境を維持するために必要なことと思われる。先述した水草刈り取りの湖水水質への影響の解析結果から、刈り取り時の底泥巻き上げはアルカリ土類金属を湖水柱へ放出することになり、水質環境の観点から望ましいことではないことが分かった。その意味で、現時点では、湖底を直接採取道具で攪乱しないハーベスターによる刈り取りの方がマンガン刈り取りより優れた方法と言える。しかしながら、ハーベスターといえども水草の上部を巻き取るように回収する際に、水草下部や底泥中の植物体に力が伝わり、底泥攪乱につながるようなことが頻繁にあるのなら、改善の余地は大きいと言える。

原理的には水草をある高さでカットした後、上部を回収するような水草刈り取り方法が最善であると思われる。マンガン刈り取りからハーベスターによる刈り取りへと移行していくことも大切と考えられるが、水中で水草を過度に引っ張り上げたりせずにカットする技術開発も同時に行っていくことが湖水環境への負担がより少ない刈り取り方法の改良を行っていく観点からは望ましいと思われる。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

琵琶湖南湖生態系の特質を、底泥間隙水を通して理解することができた。琵琶湖南湖では底質が還元的になってもリン酸態Pの溶出が抑えられている可能性が高く、一次生産がP律速になりやすいことを示唆していた。好氣的・嫌氣的環境下での金属イオン等の底泥からの溶出フラックスを評価した結果、刈り取り操作は水草帯で貧酸素水塊が出現した際には重金属類の溶出を抑制する働きがあり、湖水環境を改善する働きがあると言える。一方、刈り取り時に底泥表層を攪乱した場合には、一時的にFeイオンやアルカリ土類金属類の底泥からの溶出量が増える可能性も示唆された。以上の結果から、刈り取りが底質環境に及ぼす影響を多面的に捉えることができ、刈り取りを行わない場合と行う場合との比較検討に資する基礎データを蓄積することができた。また、現時点では、湖底を直接採取道具で攪乱しないハーベスターによる刈り取りの方がマンガン刈り取りより優れた方法と言える科学的根拠を提示することができた。

(2) 環境政策への貢献

水草刈り取りに対する影響評価の結果、刈り取り時の底質攪乱をできるだけ抑えつつ、湖底の水草堆積物量を減らすような水草刈り取り方法が望ましいことが分かった。本成果は湖底を直接採取道具で攪乱しないハーベスターによる刈り取りの方が、現在刈り取り方法の主流であるマンガン刈り取りより優れた方法であることを示唆している。今後、滋賀県等がハーベスターによる水草刈り取りの積極的導入を進める際の水質・底質影響からの根拠を示すことができた。

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

現時点で水質・底質影響が最小の水草刈り取り方法はハーベスターによる刈り取りであることが分かった。底泥表層の攪乱が激しいマンガンによる刈り取りは湖水の高pHを助長する可能性が高いことも明らかとなった。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) 霜鳥孝一，今井章雄，高津文人，小松一弘，佐藤貴之，富岡典子，篠原隆一郎，三浦真吾，奥居紳也，桐山徳也，岡本高弘：水環境学会誌、40(1)，21-29（2017）
「湖沼における底泥酸素消費量測定法の開発と湖沼環境評価への応用」

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 高津文人、霜鳥孝一：水環境学会誌、39(8)，289-293（2016）
「新しい底泥環境研究（特集「湖沼の底泥を覗く」）」

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 霜鳥孝一、今井章雄、高津文人、小松一弘、佐藤貴之、富岡典子、篠原隆一郎、三浦真吾、桐山徳也、岡本高弘：日本陸水学会第80回大会(2015)
「湖沼における底泥表層の酸素消費速度」
- 2) 霜鳥孝一、今井章雄、高津文人、小松一弘、佐藤貴之、富岡典子、篠原隆一郎、奥居紳也、桐山徳也、岡本高弘：第81回日本陸水学会(2016)
「湖沼における底泥酸素消費量とその変動特性」
- 3) A. Kohzu, A. Imai, K. Shimotori, T. Sato, K. Ishikawa, K. Komatsu, S. Ban: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Comparison in nutrient and mineral elution between sediment covered with and without macrophyte litter in Lake Biwa, Japan”

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

高津文人（2017）生態系を含めた環境モニタリングについて．平成28年度第3回霞ヶ浦勉強会

(茨城県霞ヶ浦環境科学センター 2階 会議室)

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) 霜鳥孝一, 今井章雄, 高津文人, 小松一弘, 佐藤貴之, 富岡典子, 篠原隆一郎, 三浦真吾, 奥居紳也, 桐山徳也, 岡本高弘: 水環境学会誌, 40(1), 21-29 (2017)
湖沼における底泥酸素消費量測定法の開発と湖沼環境評価への応用
- 2) 高柳淳二, 坂之井和之, 佐合純造, 鈴木穰, 田中宏明, 阿部千雅, 津森ジュン, 中藺孝裕, 尾崎正明, 山下洋正, 南山瑞彦, 天野邦彦, 中村圭吾, 時岡利和: 土木研究所報告, 209, 123-173 (2008)
閉鎖性水域の底泥対策技術に関する研究
- 3) W. Stumm & J. J. Morgan: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters (3rd edition), Wiley, New York (1996)
Aquatic Chemistry

(3) 水草バイオマスの効率的な処理技術の確立

創価大学

理工学部	修復生態学研究室	戸田 龍樹
理工学部	極限環境微生物学研究室	黒沢 則夫

<研究協力者>

創価大学 理工学部	修復生態学研究室	渡邊 啓子・秋月 真一・岸 正敏・ 藤原 正明・小寺 敏光
創価大学 理工学部	極限環境微生物学研究室	酒井 博之（平成28年度）
東京工業大学 環境・社会理工学院	中崎研究室	小山 光彦

<研究協力機関>

神奈川県横浜市北部汚泥資源化センター
東京都八王子市北野下水処理場
株式会社伊吹正

平成26～28年度累計予算額：36,156,266円（うち平成28年度：10,548,949円）
予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

琵琶湖南湖では毎年5,000～7,000 t湿重量の水草が、約0.5-2億円をかけて刈り取り除去されている¹⁾。現行の処理方法は、広大な土地を必要とする堆肥化、あるいは高コストの焼却処分であり、より効率的で低コストの処理方法、および水草バイオマスの有効な利活用法の確立が喫緊の課題である。そこで、サブテーマ3ではメタン発酵技術を用い、効率良く水草バイオマスをエネルギー変換して利用することを目指し、水草を用いたメタン発酵条件の最適化ならびにメタン変換率向上について研究を行った。

琵琶湖南湖での水草優占種は、コカナダモ、オオカナダモ、センニンモ（約55-75%）²⁾であり、メタン変換率はそれぞれ72、60%、30%³⁾で、夏-秋期に優占（50%以上）するセンニンモの易分解化が課題であった。そこで、難分解性のセンニンモのメタン変換率向上のために、前処理方法および発酵温度を検討することで、メタン変換率を1.5倍に向上することに成功し、社会実装化への道を拓いた。また、水草刈り取り量および種組成は季節変動が大きいことから、メタン発酵施設を周年通して安定的に稼働させるために、食品残渣や廃野菜を水草と混合して共消化することを検討した。アルカリ処理後の水草と生ごみとの共消化メタン発酵・実証実験では、安定したメタン生成が得られ、平均メタン変換率は76%（単消化時は63%）で、目標値の60%を達成した。ここで得られた結果は、実規模での処理に向けた算定基準となり、メタン発酵消化液を用いた微細藻類培養（サブテーマ4）を含めたライフサイクル分析の結果、現行の処理方法（堆肥化と焼却処理）

に比べて、本研究で提案するメタン発酵処理と微細藻類生産による方法の優れていることが分かった（温室効果ガス排出量は約50%削減、かつ年間約6千万円の収益を見込む）。更に、バイオガス中の二酸化炭素を循環利用する低環境負荷型のシステムを考慮して、重炭酸型炭素固定微細藻類培養システムの検討ならびに消化液で生育可能な硫黄酸化細菌の集積について追加実験を行った。

[キーワード]

バイオマス利活用、メタン発酵、アルカリ加熱処理、二酸化炭素回収、ライフサイクル分析

1. はじめに

近年、世界各地の淡水域において水草が過剰繁茂している。水草の過剰繁茂は、航行障害、漁業や生態系への影響、水草分解後の水質悪化、景観の悪化や悪臭といった、環境問題や社会的・経済的損失を引き起こしている。琵琶湖南湖では毎年5,000~7,000 t湿重量の水草が、0.5から2億円をかけて刈り取られている¹⁾が、その有効な利活用方法はいまだ確立されていない。現状の処理方法は堆肥化（外来種は焼却）であり、地域住民へ無償配布しているが、需要に季節性がある、完熟までに数年の時間を要する、臭気の発生、広大な土地が必要といった問題があり、これらの解決が喫緊の課題である。この莫大な水草バイオマスはメタン発酵技術の社会実装化が出来る量と予測される。そこで我々は、水草をメタン発酵し、バイオガスとしてエネルギーを得るとともに、得られた消化液に含まれる豊富な栄養塩を用いて微細藻類（クロレラ、スピルリナ、ヘマトコッカス等）を培養し、適切な栄養塩の循環システムを構築することが可能であると考えた。得られたバイオガスは施設内での利用後、余剰分は固定価格買取制度（FIT制度）を利用した売電収入や、培養した微細藻類は高機能餌料・化粧品原料・天然着色料といった高次利用が可能であり、これらの販売収益により、水草の刈取コストやメタン発酵・微細藻類培養施設の運営コストを補填可能であると見込まれる。また、水草刈取量および種組成は季節変動が大きいですが、食品残渣や廃野菜といった生ごみを水草と混合して共消化することで、通年でのメタン発酵施設の安定的な稼働を実現できる。そして、これは地域の有機廃棄物処理を同時に成し遂げることができる。

2. 研究開発目的

（1）テーブル実験による各種水草類の嫌気発酵処理における前処理・発酵温度の検討

水草のメタン変換率は種の違いによって30-72%と大きく異なり、細胞壁の構成成分であるリグニン量と負の相関関係にある³⁾。琵琶湖南湖において夏期から秋期にかけて約50%以上を占める水草種センニンモ²⁾は、メタン変換率が30%と低いため、エネルギー資源化においてこの易分解化が必要である。水草のリグニンはアルカリで開裂しやすいエステル結合を豊富に含む³⁾ため、アルカリ脱リグニン処理によって効果的に易分解化・メタン変換率向上が可能と予測される。

また、メタン発酵において高温発酵（50-65℃）は中温発酵（30-40℃）に比べて分解速度が高い⁴⁾。特に、水草のようなリグノセルロース系バイオマスの場合、メタン発酵プロセスの前段の加水分解過程が律速となるため、高温発酵によりこれを促進することでメタン生成速度が向上する可能性がある。そこで水草のメタン発酵の高効率化を目指し、最適アルカリ前処理条件ならびに発酵温度の検討を実施した。

(2) 収穫する水草バイオマス種・量の変動を考慮にいたした年間プロセスの最適化

琵琶湖南湖で優占する水草は、オオカナダモ、コカナダモ、センニンモの3種であるが、季節によりこれらの優占度が大幅に変動することから²⁾、この影響により刈取後の水草のメタン生成量は種組成による変動が予測される。刈取後の水草バイオマスからのメタン回収量の予測、ならびに実規模での回収可能なエネルギー量・処理コストの予測を可能にするため、琵琶湖南湖で優占する上記3種の水草について、春期から秋期にかけて毎月水草を採取し、化学組成の季節変化とメタン生成量の関係を明らかにした。

続いて、実規模での処理に向けた算定基準となる基礎データを得るため、共消化・半連続メタン発酵を実施し、メタン生成量の把握やプロセスの安定性を評価した。まず、上記で検討した基質混合比での共消化・半連続メタン発酵をテーブル実験で実施し、次に、実規模での処理に向け、ベンチスケールリアクターによる共消化・半連続メタン発酵の実証実験を実施した。

(3) バイオガスからの効率的なCO₂回収ならびにH₂S除去方法の検討

CO₂ガスの回収方法として、微細藻類培養システムが注目されているが、培地へのCO₂溶存率が低いことがこれまでの課題であった。そこで近年提唱された、重炭酸型炭素固定微細藻類培養システム (BICCAPS)⁴⁾が、本研究課題が目指すシステムに適用可能か検討した。

水草バイオマスにはSが多く含まれることから、バイオガス中のH₂S量を把握する必要がある。実証実験では株式会社伊吹正の協力で、H₂S発生量をモニタリングし、化学脱硫した。更に、効率的・低環境負荷のH₂S除去を目指し、「微細藻類-細菌共生系による新規生物脱硫法⁵⁾」に適用可能な硫黄酸化細菌群集の集積を試み、実装可能性を検討した。

(4) 開発システムの環境影響および経済性評価

サブテーマ3および4では、琵琶湖で繁茂する水草の適正処理・有効利用法として、メタン発酵とその消化液を利用した微細藻類培養を用いたシステムの研究開発を実施した。開発システムによる環境負荷低減への影響および経済性を評価するために、現行の処理法と比較したライフサイクルアセスメント (Life Cycle Assessment: LCA) 評価とライフサイクルコスト (Life Cycle Cost: LCC) 評価を実施した。

3. 研究開発方法

以下の実験で使用した水草は、滋賀県琵琶湖環境科学研究センター、滋賀県琵琶湖政策課、ならびに淡海環境保全財団の協力により琵琶湖南湖で採取した。メタン発酵の種汚泥は、横浜市北部汚泥資源化センターの中温嫌気性消化汚泥を使用した。

(1) テーブル実験による各種水草類の嫌気発酵処理における前処理・発酵温度の検討

1) 最適アルカリ処理条件の検討ならびにアルカリ処理水草の回分メタン発酵実験

a 最適アルカリ処理条件の検討

基質は、約1-2 cmに破碎したセンニンモとオオカナダモを用いた。湿重量10 gの基質と各濃度のNaOH溶液10 mLを、50 mLの遠沈管に投入し、よく混合した。NaOH添加量は、0、0.03、0.05、0.10、0.20 g g-固形物量 (TS)_{基質}⁻¹、処理温度は、60℃ならびに80℃、処理時間は0.5-3.0時間とし、

加熱処理を施した。溶存態化学的酸素要求量 (SCOD) ならびにリグノセルロース量 (セルロース、ヘミセルロース、リグニン) の変化を分析した。

b アルカリ処理水草の回分メタン発酵実験

基質は、NaOH添加量0.10ならびに0.20 g g-TS_{基質}⁻¹、80℃、3時間の条件で処理したセンニンモとオオカナダモを用いた。500 mLの三角フラスコに、前処理基質または無処理基質と種汚泥を揮発性有機物 (VS) 比で1:2となるように投入し、37℃で14日間の回分メタン発酵処理を実施した。

2) 破碎水草の高温・半連続メタン発酵における発酵温度の検討

基質は、1-2 cm程度に破碎したオオカナダモ (創価大学構内の人工池より採取) を用いた。有効容積1.5 Lの完全混合型反応槽 (CSTR) を用い、有機物負荷速度 (OLR) が1.0 g-VS L⁻¹ day⁻¹となる量の基質を2日に1回投入した。発酵温度を37℃から55℃、65℃へと約30日ごとに段階的に増加させた。未分解基質の影響を除くため、各発酵温度条件の間に5-7日間の基質供給休止期間を設けた。各発酵温度条件におけるメタン生成量、SCODならびに揮発性脂肪酸 (VFA) の経時変化についてモニタリングした。

3) アルカリ処理水草の半連続メタン発酵における発酵温度の検討

基質は、NaOH 0.20 g g-TS_{基質}⁻¹、80℃、3時間で処理したセンニンモを用いた。有効容積4.5 LのCSTRを用い、OLRが1.0 g-VS L⁻¹ day⁻¹となる量の前処理基質または無処理基質を2日に1回投入した。37℃または55℃で100-120日間の半連続処理を実施し、消化液pH、SCOD、VFA、TS、VSおよびバイオガス生成量・組成の経時変化をモニタリングした。種汚泥の馴養に必要な期間を明らかにするため、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動により微生物相の変化を解析した。

(2) 収穫する水草バイオマス種・量の変動を考慮にいたった年間プロセスの最適化

1) 水草の化学組成の季節変化とメタンガス生成量の関係

基質は、2015年6月から10月まで毎月1回採取したオオカナダモ、コカナダモ、センニンモの3種を用いた。採取した水草は、種毎に分類・洗浄後、含水率の違いによる影響を除くため、80℃で12時間乾燥し、ミルで3 mm以下に粉碎して用いた。水草ならびに消化汚泥のTS、VS、全炭素量、全窒素量、水草のセルロース量、ヘミセルロース量、リグニン量を測定した。500 mLのメジウム瓶に各種水草と種汚泥を、VS比で1:2となるように投入し、37℃で14日間の回分メタン発酵処理を実施した。メタンガス生成量は、メタン生成能自動分析システム (AMPTS II、Bioprocess Control) を用いてオンラインモニタリングした。

2) 各種水草類と食品廃棄物との共消化嫌気発酵実験の実施

a 基質混合比の検討

基質は、センニンモならびに生ごみ (給食センター由来) を用いた。センニンモと生ごみの混合比は、VS比で0:1、1:1、5:1、10:1、1:0とし、汚泥のみのブランクを加えた合計6条件とした。センニンモは、NaOH 0.1 g g-TS_{基質}⁻¹、80℃、3時間の条件でアルカリ処理し、生ごみを混合後、pH 8付近になるようにHClを添加した。500 mLの三角フラスコに、混合基質と種汚泥を、VS比で1:2となるように投入し、37℃、100 rpmで回分メタン発酵を実施した。

b 発酵温度の検討

基質は、2015年6月末に採取した混合水草 (コカナダモ:センニンモ:その他=5:4:1)、ならびに給食センター由来の野菜調理くずと残飯の白米 (破碎後、湿重量比2:1で混合) を用いた。

混合水草は、NaOH 0.1 g g-TS_{基質}⁻¹、80℃、3時間の条件でアルカリ処理し、生ごみを混合後、pH 7.5付近になるようにHClを添加した。混合水草：生ごみ：溶液（アルカリ処理用NaOH溶液＋中和用HCl溶液）の湿重量比が3：3：2となるように投入した。有効容積1.5 LのCSTRに、OLRが 1.0 g-VS L⁻¹ day⁻¹となる量の基質を2日に1回投入した（HRTは40日）。37℃または55℃での120日間の半連続処理を実施し、バイオガス生成量・組成、消化液のpH、SCOD、VFA、TSならびにVSの経時変化をモニタリングした。

c ベンチスケールリアクターによる実証実験

基質は琵琶湖南湖で2016年5月中旬に採取した混合水草（コカナダモ：オオカナダモ：センニンモ＝4：3：3）ならびに給食センター由来の生ごみ（野菜の調理くずと白米の残飯の混合物、湿重量比2：1で混合、調理くずの組成は表(3)-1に記載）を用いた。種汚泥は、混合水草と生ごみを基質に用いて中温条件で2か月間馴養した消化汚泥を使用した。

混合水草は、NaOH 0.1 g g-TS_{基質}⁻¹、80℃、3時間の条件でアルカリ処理し、生ごみを混合後、pH 7.5付近になるようにHClを添加した。基質混合比は、混合水草：生ごみ：溶液（アルカリ処理用NaOH溶液＋中和用HCl溶液）の湿重量比が3：2：3となるように投入した。また、比較対照として水草のみ（単消化）でのメタン発酵も実施した。単消化時の基質混合比は、混合水草：溶液（アルカリ処理用NaOH溶液＋中和用HCl溶液）の湿重量比が5：3となるように投入した。有効容積160 LのCSTR（図(3)-1）に、湿重量合計8 kgの基質を2日に1回投入した（HRTは40日、OLRは共消化時 1.65 g-VS L⁻¹ day⁻¹、単消化時0.76 g-VS L⁻¹ day⁻¹）。37℃で120日間の半連続処理を実施し、バイオガス生成量・組成、消化液のpH、SCOD、VFA、TSならびにVSの経時変化をモニタリングした。微生物相の安定性を次世代シーケンスにより解析した。

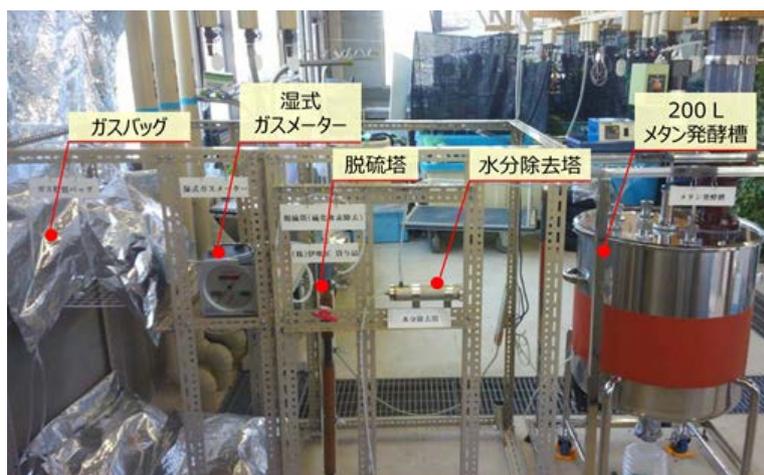
表(3)-1 野菜の調理くず組成

調理くず種類	重量 (kg)	備考
ニンジン	27.5	皮部分および茎部分
キャベツ	38.5	葉部分
キャベツ	25.3	芯部分
ゴボウ	11.3	皮部分
ピーマン	4.0	種は可能な限り除去
もやし	0.4	
合計	107.0	

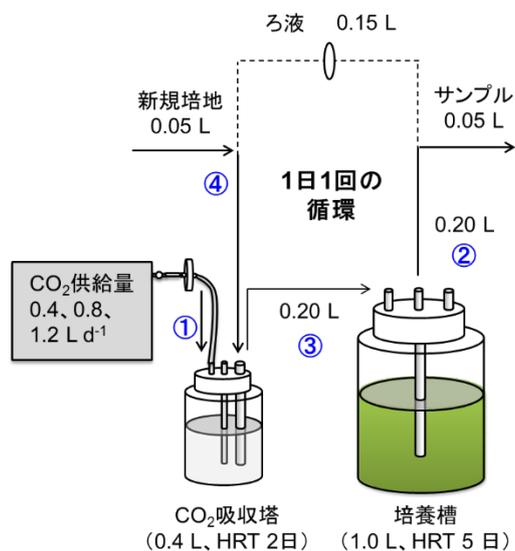
(3) バイオガスからのCO₂回収ならびにH₂S除去方法の検討

1) CO₂回収方法の検討

CO₂吸収塔と藻類培養槽（炭酸塩再生槽）を用い、BICCAPS半連続運転を実施した（図(3)-2）。各槽のHRTは、2日および5日（本プロセス全体のHRTは28日）とし、異なるCO₂供給量（0.40、0.80、1.2 L d⁻¹）におけるCO₂吸収量および微細藻類乾燥重量の変化について評価した。



図(3)-1 実証実験に使用した200 L規模の完全混合型メタン発酵槽



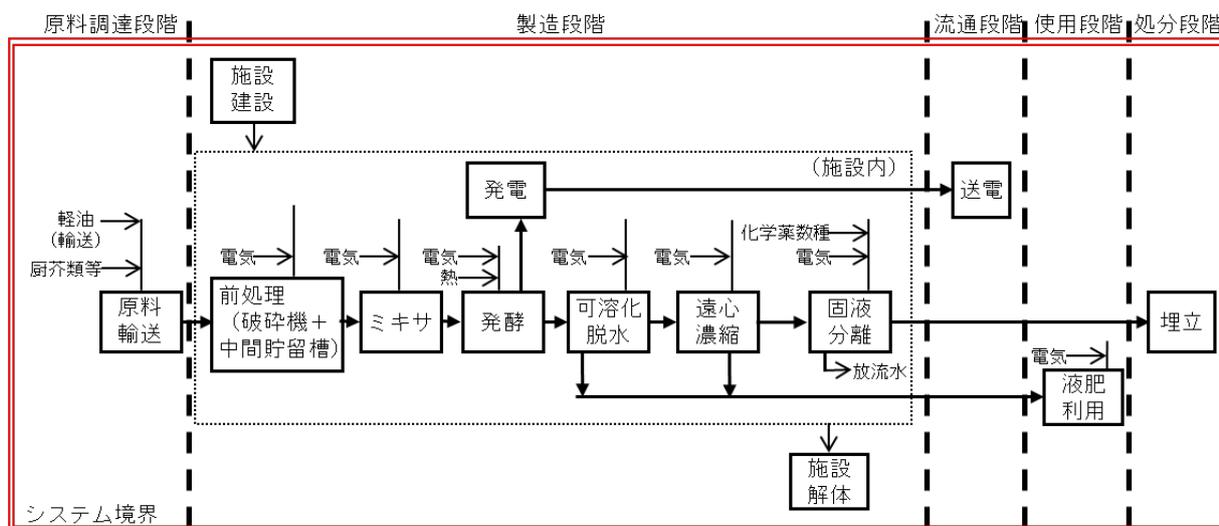
図(3)-2 BICAPPSを用いたCO₂回収実験装置図。実線：添加または採取（番号は操作順）、破線：返送

2) H₂S除去方法の検討

株式会社伊吹正の協力で実証実験でのH₂S発生量を測定し、簡易型化学脱硫塔（脱硫剤「ニオン202A 8 mm φ」を、安全面を考慮し40 mm φ × 400 mmH充填）によりH₂Sを除去した。硫黄酸化細菌群集の集積は、処理方法の異なる2種類の下処理場由来の好気性汚泥（横浜市北部第二水再生センターの硝化汚泥および八王子市北野下水処理場の活性汚泥）、コカナダモの中温・回分メタン発酵由来消化液ならびにチオ硫酸ナトリウム（Na₂S₂O₃）を用いた。500 mLの三角フラスコに、培地180 mLと播種試料20 mLを入れ、室温下、200 rpmで培養した。濁度、pH、チオ硫酸イオン（S₂O₃²⁻）濃度、硫酸イオン（SO₄²⁻）濃度および細胞数を測定した。また、硫黄酸化細菌の存在を確認するためにSoxB遺伝子の検出⁸⁾ならびに微生物相の経時変化を解析した⁹⁾。

(4) 開発システムの環境影響および経済性評価

メタン発酵を中心としたバイオガス関連事業におけるLCA評価では、評価の対象とする処理プロセスを(1)原料調達段階、(2)製造段階、(3)流通段階、(4)使用段階、(5)処分段階の5段階に分けて設定している(図(3)-3)¹⁰⁾。本プロジェクトではこれらのシステム境界のうち、研究開発内容と直結する(2)製造段階と(4)使用段階を中心に評価を実施した。なお、原料の規模はメタン発酵処理で一般的な50 ton day⁻¹とし、実処理を想定した水草と生ごみの共消化処理システムを採用した。現状の水草および生ごみの処理法はそれぞれ堆肥化・焼却処理であり、これら現行処理法と開発システムを比較した。



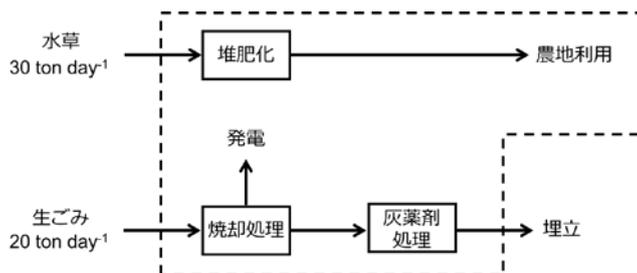
図(3)-3 バイオガス関連事業のシステム境界の例¹⁰⁾

1) シナリオ設定およびシステムフロー

LCA・LCC評価を行うにあたり4つのシナリオを設定し、各システムフローを以下に示した。

シナリオ1：堆肥化・焼却処理

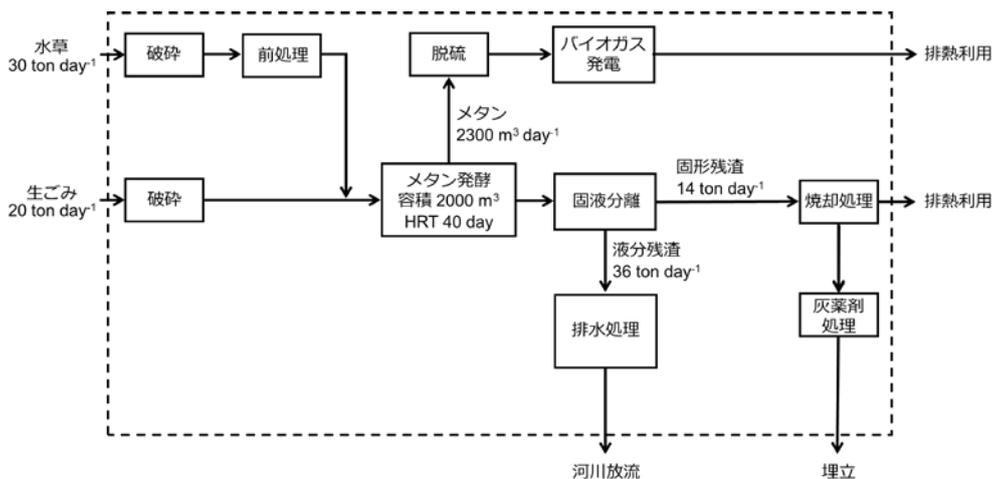
水草30 ton day⁻¹を堆肥化し、生ごみ20 ton day⁻¹を焼却処理するものとした。堆肥化は重機の切替し作業によって行い、得られた堆肥は周辺農地に全て還元できるものとした。焼却灰については灰薬剤処理を施した後、埋め立て処理するものとした。廃棄物の焼却により発生した排熱から蒸気を生成し、蒸気タービンによって発電するものとした。埋め立ておよび排熱利用工程(温水利用等)については評価対象外とした。



図(3)-4 シナリオ1：堆肥化・焼却処理

シナリオ2：メタン発酵-排水処理

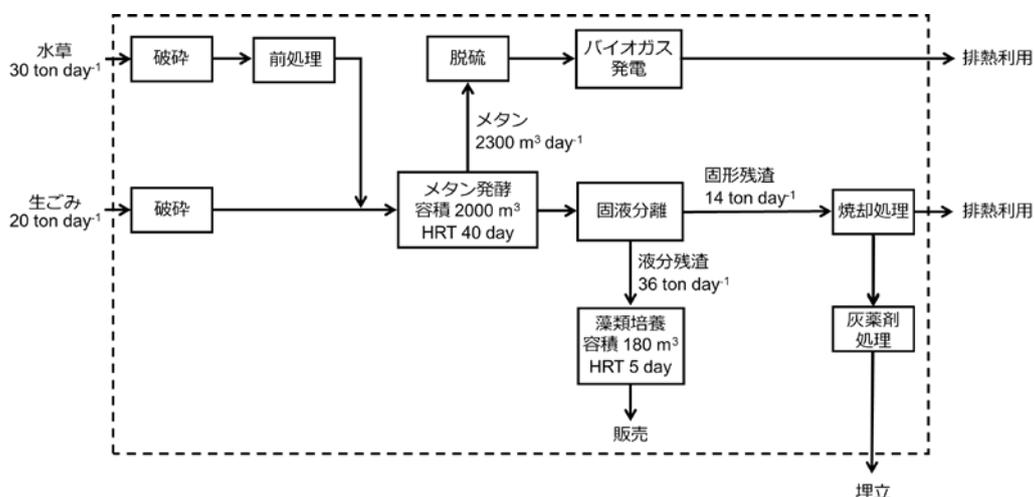
水草30 ton day⁻¹と生ごみ20 ton day⁻¹を混合し、発酵温度37℃、HRT40日で共消化メタン発酵処理を行うものとした。水草は破碎した後、年間を通じてアルカリ加熱処理するものとした。消化液については、スクリーンプレスを用いて固液分離後、固形物残渣は焼却処理を施し、焼却灰を灰薬剤処理して埋め立てるものとした。液分残渣については、従来の処理法である硝化-脱窒素を用いた排水処理後、河川放流するものとした。焼却灰の埋め立て処分および河川放流工程については評価範囲外とした。



図(3)-5 シナリオ2：メタン発酵-排水処理

シナリオ3：メタン発酵-藻類培養

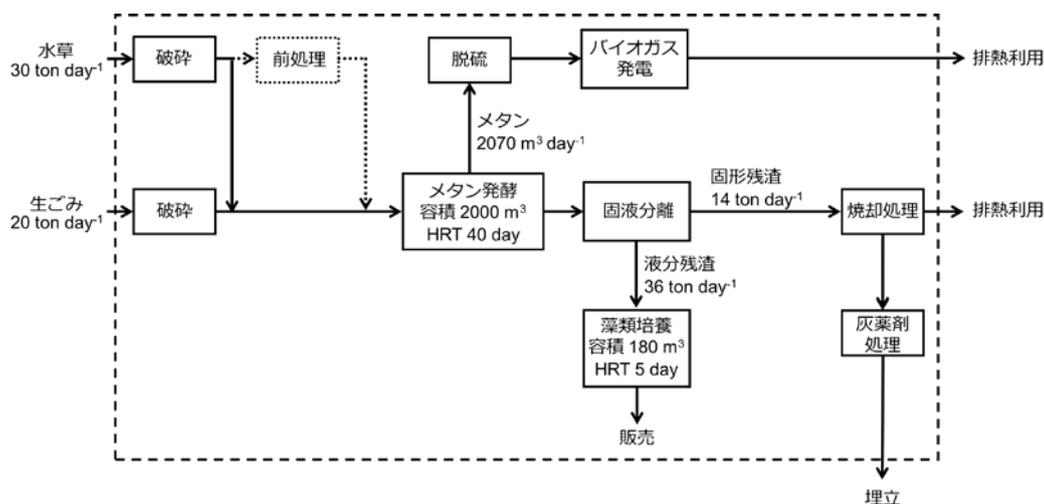
水草30 ton day⁻¹と生ごみ20 ton day⁻¹をシナリオ2と同じ条件でメタン発酵処理するものとした。液分残渣については、10倍希釈した後、閉鎖系微細藻類培養槽にHRT5日となる量を供給して藻類生産を行うものとした。冬期における培養槽の加温はバイオガスの発電によって得られる排熱を循環利用するものとした。



図(3)-6 シナリオ3：メタン発酵-藻類培養

シナリオ4：メタン発酵（秋期のみアルカリ処理）-藻類培養

水草30 ton day⁻¹と生ごみ20 ton day⁻¹シナリオ2・3と同じ条件でメタン発酵処理するものとした。ただし、アルカリ加熱処理は難分解性水草（センニンモ等）が優占して繁茂する秋期（9・10月）のみとした。液分残渣についてはシナリオ3と同じ条件で藻類培養に用いるものとした。冬期における培養槽の加温はバイオガスの発電によって得られる排熱を循環利用するものとした。



図(3)-7 シナリオ4：メタン発酵（秋期のみアルカリ処理）-藻類培養

(5) 分析方法

pH測定はガラス電極pHメーター（HORIBA、B-212またはMettler Toledo、Seven Compact pH/Ion meter S220）を用いた。TS、VS、COD濃度は、American Public Health and Association (1998)¹¹⁾に定められた手法に準拠し測定した。各種沈水植物のリグノセルロース量は、ファイバーアナライザー（Ankom、A-200、USA）を用いて、Detergent法¹²⁾に準拠し測定した。VFAsの測定にはGC-FID（Hitachi、G-3000、Japan）とキャピラリーカラム（Stabilwax、L: 30 m、I.D.: 0.53 mm、df: 1.00 μm）、キャリアガスとして窒素ガス（40 mL min⁻¹）を用いた。インジェクションとFIDの初期温度をそれぞれ240℃に、カラム温度は100℃から160℃まで4℃ min⁻¹で昇温するよう設定し、測定した。

ラボスケールメタン発酵実験のバイオガス生成量は、水上置換法によって測定した。バイオガス中のCH₄とCO₂の含有率は、GC-TCD（Shimazu、GC2014、Japan）とパックドカラム（Shincarbon ST、L: 6 m、I.D.: 3 mm）、キャリアガスとしてヘリウムガス（40 mL min⁻¹）を用いた。インジェクションとTCDの初期温度をそれぞれ120℃、260℃に、カラム温度は40℃から250℃まで30℃min⁻¹で昇温するよう設定し、分析した。VFAは、GC-FID（Hitachi、G-3000、Japan）とキャピラリーカラム（Stabilwax、L: 30 m、I.D.: 0.53 mm、df: 1.00 μm）、キャリアガスとして窒素（40 mL min⁻¹）を用いた。インジェクションとFIDの初期温度をそれぞれ240℃に、カラム温度は100℃から160℃まで4℃ min⁻¹で昇温するよう設定し、分析した。

ベンチスケールメタン発酵実験のバイオガス生成量は、湿式ガスメータ（シナガワ、W-NK-0.5）を用いて測定した。バイオガス中のCH₄とCO₂の含有率は、GC-TCD（Shimazu、GC14-B、Japan）と

バックドカラム (Shincarbon ST、L: 6 m、I. D.: 3 mm)、キャリアガスとしてヘリウムガス (20 mL min^{-1}) を用いた。インジェクションとTCDの初期温度をそれぞれ 120°C 、 260°C に、カラム温度は 40°C から 250°C まで $30^\circ\text{C min}^{-1}$ で昇温するよう設定し、分析した。

16S rDNAクローン解析法は以下の手順で行った。まず、約5 gの試料からUltraClean Soil DNA Kit Mega Prep (Mobio) を用いてメタゲノムDNAを抽出し、これを鋳型としてバクテリアおよびアーキアの16S rDNAをPCRにより増幅した。次に、得られたPCR産物をGFX PCR DNA and a Gel Band Purification Kit (GE Healthcare) により精製後、プラスミドpT7 Blue T-vector (Novagen) と、大腸菌DH5 α 株を用いてクローンライブラリーを作製した。無作為に選択したクローンの16S rDNAの5' 側約650 bpの塩基配列を決定後、NCBIのBLASTを利用して相同性検索を行った。

DGGE法は、16S rDNAのV3-V5領域をPCR法で増幅した産物を、ゲル濃度8%、変性剤濃度勾配は20%–60%とし、 $200\text{V} \cdot 4$ 時間の電気泳動を行った。検出されたバンドを回収・再度PCRし、塩基配列解析後に得られた配列はNCBIのBLASTを利用して相同性検索を行った⁹⁾。

次世代シーケンサーMiSeq (illumina) を用いた菌叢解析は以下の手順で行った。まず、メタゲノムDNAを鋳型とし、2step tailed PCR法を用いた16S rDNA (V4領域) の増幅を行った。次に、MiSeqシーケンサーを用いて $2 \times 250\text{bp}$ の条件で大量の塩基配列を決定後、菌叢解析用パイプラインQiime (<http://qiime.org/>) を用いた系統解析を実施した。なお、Qiimeの解析パラメーターは全てデフォルト条件で行った。

チオ硫酸イオン ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) および硫酸イオン (SO_4^{2-}) 濃度は高速液体クロマトグラフィー (センチュウ科学、HPLC SSC-660 G SEL) を用いて測定した。カラムとして陰イオンカラム (Shodex、IC I-524A) を、移動相としてp-ヒドロキシ安息香酸 0.25 mmol L^{-1} 、N, N-ジメチルエタノールアミン 1.2 mmol L^{-1} 、メタノール10% (v/v) を含有する水溶液を用い、カラム温度 50°C 、流速 1.5 mL min^{-1} 、試料注入量 $15 \mu\text{L}$ で測定した。

吸光度は、紫外可視分光光度計 (SHIMADZU、UV-2450) を用いて波長 600 nm で測定した。細胞計数用の試料 1 mL は、中性ホルマリン $30 \mu\text{L}$ で固定し 4°C で冷蔵保存した。測定時は、適宜希釈した試料 $900 \mu\text{L}$ にSYBERGold (Molecular Probes) の400倍希釈液 $100 \mu\text{L}$ を加えて染色し、孔径 $0.20 \mu\text{m}$ のアイソポアメンブレンフィルター (Millipore、GTBP04700) で濾過した。その後、退色防止液 (Invitrogen、Prolong Gold Antifade) を滴下したスライドガラスにフィルターとカバーガラスを乗せ、落射型蛍光顕微鏡 (Carl Zeiss、Axioskop 2 plus) を用いて倍率1000倍で計数した¹³⁾。

4. 結果及び考察

(1) テーブル実験による各種水草類の嫌気発酵処理における前処理・発酵温度の検討

1) 最適アルカリ処理条件の検討ならびにアルカリ処理水草の回分メタン発酵実験

最適なアルカリ処理条件を検討した結果、「 $\text{NaOH } 0.1 \text{ g g-TS}_{\text{基質}}^{-1}$ 、 80°C 、3時間」であることを見出した。これを用いてアルカリ処理水草の回分メタン発酵実験を実施した結果、CODベースのメタン変換率の向上はセンニンモで約50%、オオカナダモで約24%であった。これらの結果から、アルカリ処理はリグニン量の多い水草 (センニンモ) の脱リグニンに効果的で、前処理方法として有用であることが示された。実規模での処理時には、処理コストを抑えるために、センニンモが優占する時期 (秋期) にのみアルカリ処理を実施すると良い。アルカリ処理と高温発酵の組み合わせにより、更にメタン変換率を向上出来る可能性があるため、次に発酵温度を検討した。

2) 破碎水草の高温・半連続メタン発酵における発酵温度の検討

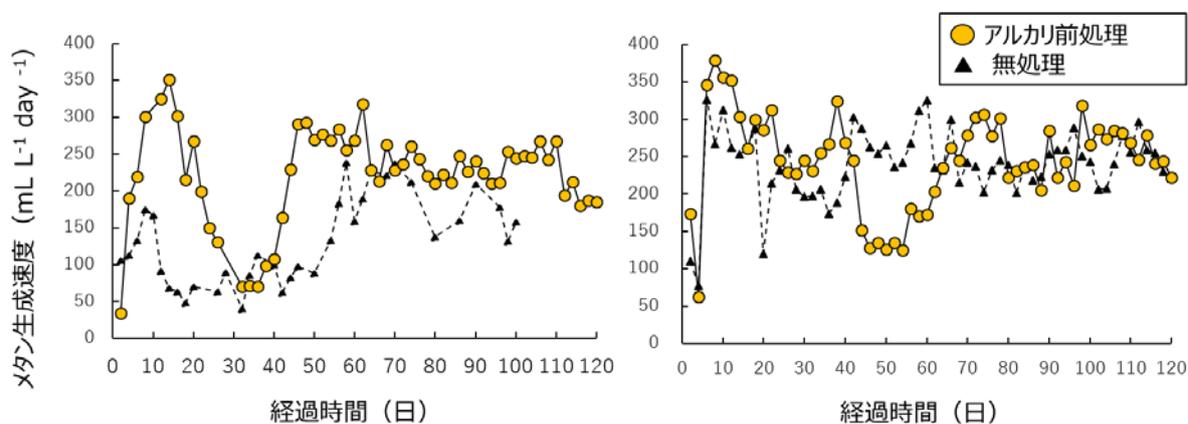
65℃では、未分解基質の蓄積によりメタン発酵槽内の汚泥濃度が低下し、メタン生成速度は約 $100 \text{ mL L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ と低い値を示した。一方、55℃では約2倍の $220 \text{ mL L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ で安定したことから、水草の高温メタン発酵時の温度は55℃が適している。

3) アルカリ処理水草の半連続メタン発酵における発酵温度の検討

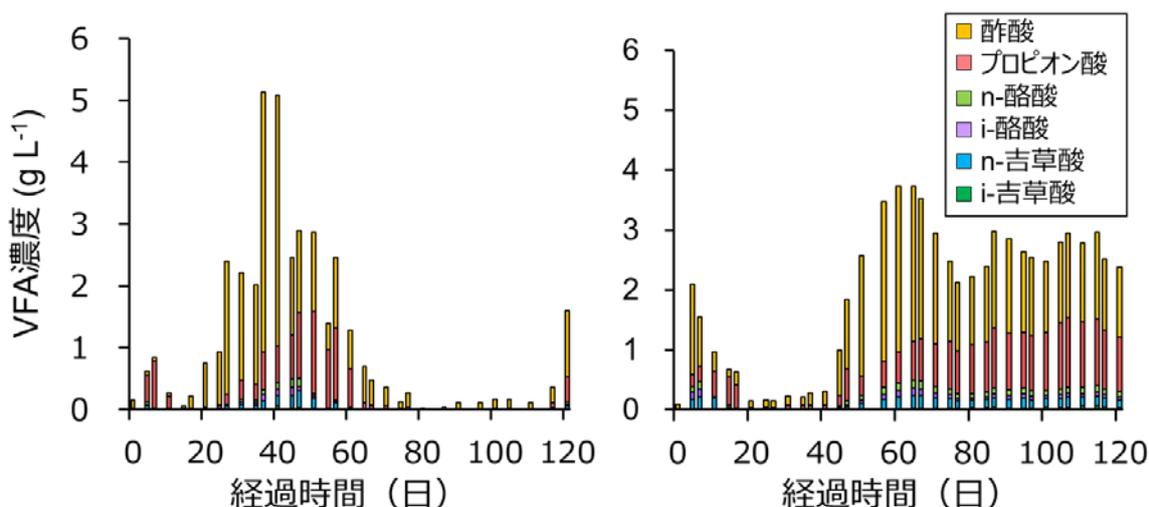
メタン生成速度は、全ての条件において一時的な低下が見られたものの、40-60日目以降回復した(図(3)-8)。これに伴う微生物相の変化が見られたが、温度条件に関わらず約2か月後に微生物相は安定した。即ち、実規模での水草のメタン発酵時には、種汚泥を2か月間順養後に使用することで速やかな運転立ち上げが可能である。

メタン生成速度が回復した後の、中温・無処理条件、中温・アルカリ処理条件、高温・無処理条件、高温・アルカリ処理条件における積算メタン収率はそれぞれ133、218、240、245 mL g-VS^{-1} であり、平均メタン変換率はそれぞれ28、46、50、51%であった。これらの結果より、中温条件におけるアルカリ処理の効果は高く、メタン生成は約2倍に向上することが明らかとなった。

一方、高温条件は、中温より高いメタン生成量を示したが、アルカリ処理の有無によるメタン生成量の向上は見られなかった。中温と高温におけるアルカリ処理条件の系列を比較すると、高温ではメタン生成速度の回復後、酢酸濃度が低下したもののVFAの蓄積が見られた(図(3)-9)。消化液の利用(微細藻類培養)を考慮すると、実規模での水草のメタン発酵は、VFA濃度の低い中温発酵が適切である。



図(3)-8 各発酵温度条件におけるアルカリ処理センニンモ/無処理センニンモのメタン生成速度。左：37℃、右：55℃

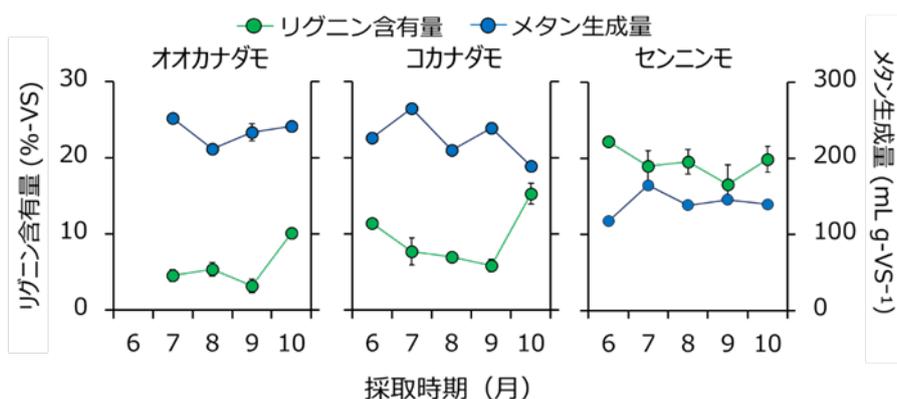


図(3)-9 アルカリ処理後のセンニンモのメタン発酵処理におけるVFAの経時変化。左:37°C、右:55°C

(2) 収穫する水草バイオマス種・量の変動を考慮にいたした年間プロセスの最適化

1) 水草の化学組成の季節変化とメタン生成量の関係

季節ごとに採取した水草のリグニン量は、種によって異なる傾向を示した(図(3)-10)。オオカナダモ、コカナダモ、センニンモに含まれるリグニン量は、それぞれ3.2-10.1%-VS、5.0-13.4%-VS、16.6-22.2%-VSを推移し、平均値はそれぞれ $5.8 \pm 3.0\%$ -VS、 $8.0 \pm 3.4\%$ -VS、 $19.4 \pm 2.0\%$ -VSであった。センニンモに含まれるリグニン量は他の2種と比較して約1.5-5.1倍高い値を示した。オオカナダモとコカナダモのリグニン量は、9月から10月にかけてそれぞれ3.0倍、2.7倍に増加した。一方、センニンモのリグニン量には季節的な変化は見られなかった。



図(3)-10 水草の化学組成およびメタン生成量の季節変化。※オオカナダモ・6月：採取出来ず

水草のメタン生成量が、種または季節の違いにより有意に変動するかどうかを明らかにするために、二元配置分散分析を行った結果、種と季節の違いの両者に影響を受けることが明らかとなった(表(3)-2、 $p < 0.01$)。異なる種間と異なる季節間におけるメタン生成量のばらつきは、変動係数でそれぞれ22-32%、7-13%の値となり、種組成の違いが、季節の違いよりもメタン生成量に大きく影響することが示された。

以上の結果から、水草の年間を通じたメタン生成ポテンシャルの推定には、季節性よりはむしろ水草種の組成を把握することが重要である。

表(3)-2 異なる季節に採取した沈水植物のメタン生成量と種間および季節間の変動係数

種名	6月	7月	8月	9月	10月	平均値	標準偏差	変動係数 (%)
オオカナダモ	220	252	211	234	242	232	16	7
コカナダモ	226	265	211	239	189	226	26	13
センニンモ	118	165	139	147	140	142	16	12
平均値	188	227	187	207	190	200		
標準偏差	61	55	42	52	51			
変動係数 (%)	32	24	22	25	27			

※ 季節および種の違いによる変動はともに有意 ($p < 0.01$)

※※欠損値 (オオカナダモ・6月) : Little & Rubin (1989)¹⁴⁾の式により補填

2) 各種水草類と食品廃棄物との共消化嫌気発酵実験の実施

a 基質混合比の検討

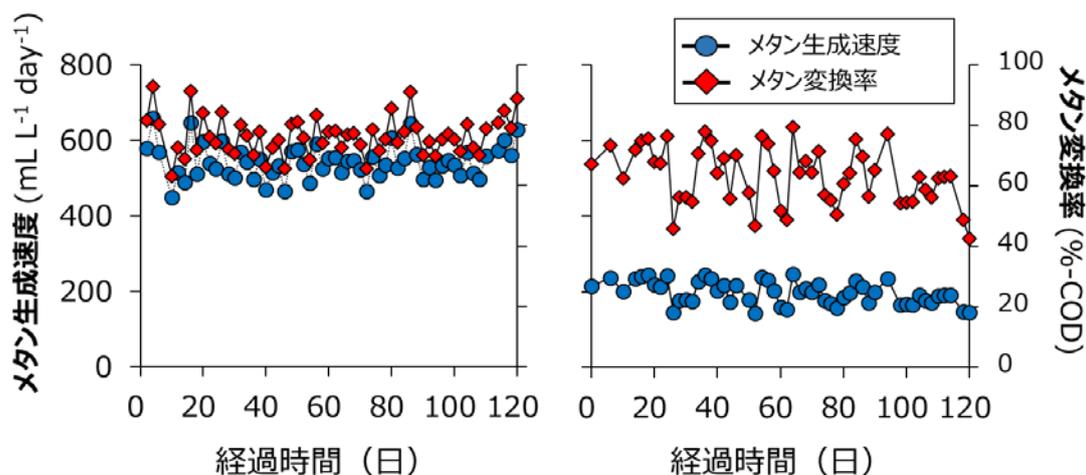
センニンモ：生ごみの基質混合比が、0 : 1、1 : 1、5 : 1、10 : 1、1 : 0の系列における積算メタン生成量はそれぞれ437、265、228、191、201 mL g-VS⁻¹であった。また、メタン変換率はそれぞれ71、47、41、41、42%であった。センニンモの割合が高い系列間 (5 : 1、10 : 1、1 : 0) では、メタン変換率にほぼ差は見られなかった。生ごみのみを基質とした場合、易分解性であるために過剰な酸生成が起きやすいが、水草と混合することによりVFA濃度の最大値は生ごみのみと比較して低く抑えられた。以上より、生ごみを水草と共消化メタン発酵処理することにより、高いメタン生成が得られるだけでなく、安定した運転が可能である。

b 発酵温度の検討

運転開始後10日目以降の共消化基質のメタン生成速度は、中温条件・高温条件それぞれ342-703、397-766 mL L⁻¹ day⁻¹であり、平均値はそれぞれ545±75.7 mL L⁻¹ day⁻¹、590±73.9 mL L⁻¹ day⁻¹であった。また、平均メタン変換率は、中温条件・高温条件それぞれ、76と79%であり差が見られなかった。メタン発酵槽内のpHは、7.5-7.9 (中温)、7.6-8.1 (高温) であり、メタン発酵の至適範囲内であった。以上より、アルカリ処理した混合水草と生ごみとの共消化・120日間の半連続運転では発酵温度におけるメタン変換率に大きな差が見られなかった。本結果ならびに加温によるコストを考慮し、ベンチスケールでの実証実験では中温条件を採用し、安定性を評価することとした。

c ベンチスケールリアクターによる実証実験

200 Lの完全混合型リアクターを用いて120日間の半連続メタン発酵を実施した結果、共消化・単消化の両実験において、安定したメタン生成を確認することが出来た (図(3)-11)。

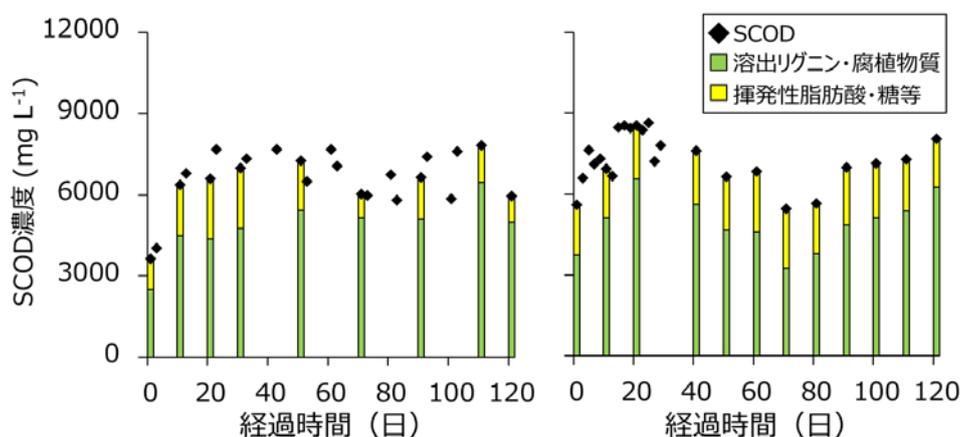


図(3)-11 実証実験におけるメタン生成速度およびメタン変換率の経時変化。左図：共消化メタン発酵、
右図：単消化メタン発酵

pHは、共消化・単消化の両条件において実験期間を通して安定しており、共消化では7.0-7.8、単消化では7.1-7.7と、メタン発酵の至適範囲内であった。メタン生成速度は、共消化では448-658 mL L⁻¹ day⁻¹、単消化では144-248 mL L⁻¹ day⁻¹であり、平均値はそれぞれ542±46 mL L⁻¹ day⁻¹、196±30 mL L⁻¹ day⁻¹であった。メタン変換率は、共消化では63-91.2%、単消化時では42.6-79.3%と変動が見られたものの、平均値は共消化で76%、単消化で63%と高いメタン変換率であり、両条件共に本プロジェクトでの目標値60%を達成することが出来た(図(3)-11)。共消化の方が、単消化よりも投入基質量あたりのメタン生成量が高く(それぞれ44 L kg⁻¹(水草+生ごみ)⁻¹、16 L kg⁻¹水草⁻¹)、メタン変換率も安定したことから、年間を通してメタン発酵を行うためには共消化を実施することが望ましい。

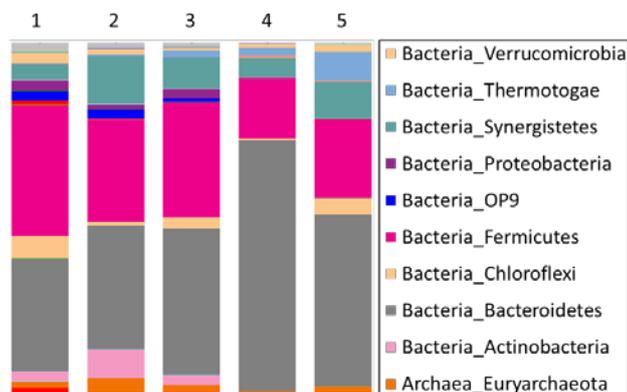
以上より、アルカリ処理後の混合水草と生ごみの共消化・半連続メタン発酵は、①高いメタン変換率であったこと、②パフォーマンスが運転期間を通して安定していたこと、③投入湿重量あたりのメタン生成量が単消化の約3倍になること、という点から、実用性が高いプロセスである事が示され、実規模メタン発酵への実現可能性が拓かれた。

SCOD濃度は、6,000-8,500 mg L⁻¹程度と比較的高い値を示した(図(3)-12)。SCODの主要成分は溶出リグニンや腐植物質であり、VFAや糖等の大部分はメタン発酵により除去されていた。嫌気プロセスでは、溶出リグニンや腐植物質は難分解であるため、消化液中にこれらが高濃度で存在したと考えられる。一方で、単消化の実験開始後70日目頃には一時的に溶出リグニンや腐植物質の濃度が低下しており、これは微生物群集が変化した可能性があるため、次世代シーケンスによる微生物相の解析を行い確かめた。



図(3)-12 実証実験におけるメタン発酵消化液中のSCOD濃度および組成の経時変化。左：共消化メタン発酵、
右：単消化メタン発酵

微生物相解析の結果、実験期間を通して、Firmicutes門 (17-37%) やBacteroidetes門 (32-72%) が優占していた (図(3)-13) ことから安定したメタン発酵が行われていたことが分かる。溶出リグニン・腐植物質量の一時的な低下が見られた単消化60日目頃においてBacteroidetes門の一時的な増加 (72%) が見られたことから、これらの分解への寄与が示唆された。単消化時には、Firmicutes門に属するセルロース分解菌 *Ruminococcus flavefaciens*¹⁵⁾ ならびにタンパク質分解菌 *Proteiniclasticum* sp.¹⁶⁾ が特異的に検出されたことから、水草の投入割合が増加する時期 (特に夏期) に、両種の存在比を増加させることが、メタン発酵の前半の過程である加水分解・酸生成プロセスを安定的に行うために重要である。



図(3)-13 実証実験における微生物相の経時変化 (門レベル)。1：順養後の種汚泥、2：共消化メタン発酵・60日目、3：共消化メタン発酵・120日目、4：単消化メタン発酵・60日目、5：単消化メタン発酵・120日目。

凡例：主に検出された門

(3) バイオガスからのCO₂回収ならびにH₂S除去方法の検討

1) CO₂回収方法の検討

培養槽のpHは、全系列において平均pHが9.4以上であり、微細藻類のCO₂利用ならびに炭酸塩の再生が行われていた。微細藻類乾燥重量は定常状態で1,300 mgDW L⁻¹付近であり、同期間における増

殖速度も約300 mgDW L⁻¹ d⁻¹と比較的高い値で安定していた。以上より、有効容積0.4 LのCO₂吸収塔と有効容積1 Lの培養槽で構成されるBICCAPSにおいて、CO₂供給量0.4 L d⁻¹で安定したCO₂回収と藻類バイオマス生産が可能であることが証明された。

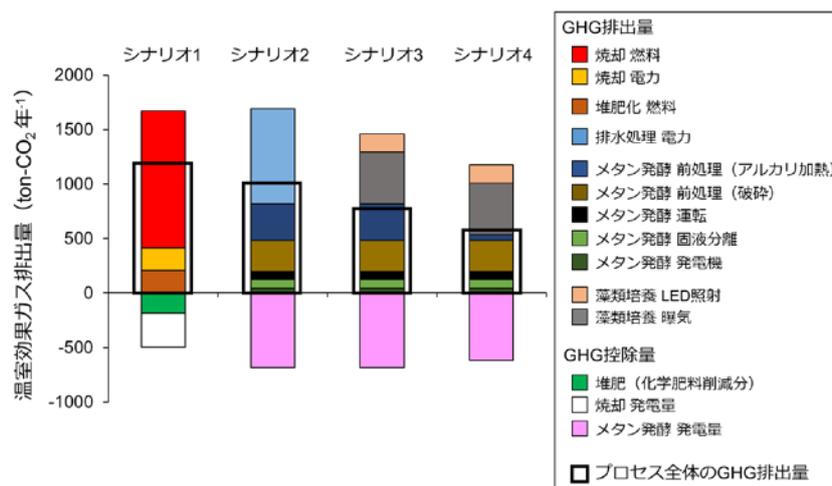
2) H₂S除去方法の検討

実証実験におけるH₂S発生量は、共消化時は約80 ppm、単消化時は約50 ppm（基質投入後3-12時間の最大値）であり、脱硫塔通過後には検出されず、実験期間を通して全量が十分に除去されていた。下水処理場由来の好気汚泥からメタン発酵消化液で生育可能な硫酸化細菌群集の集積を試みた結果、*Halothiobacillus neapolitanus*を含む群集を得ることが出来た。S₂O₃²⁻除去速度は、26-16 mmol L⁻¹ d⁻¹であり、システムへの適用が期待される。

(4) 開発システムの環境影響および経済性評価

1) 環境影響評価

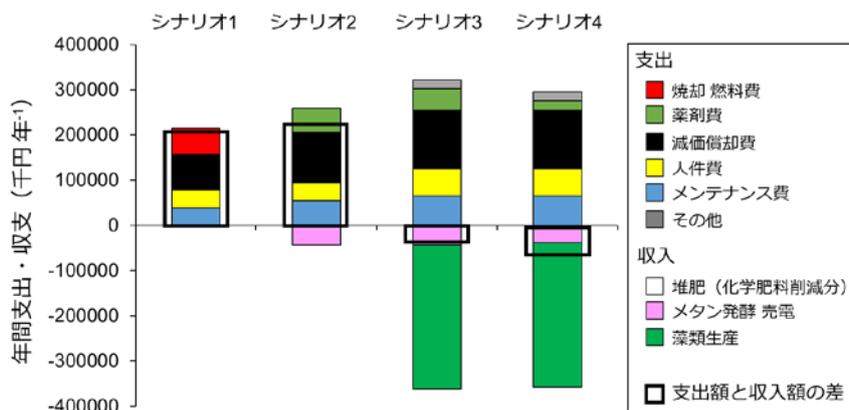
図(3)-14に、水草30 ton day⁻¹と生ごみ20 ton day⁻¹を年間処理した際のGHG排出量、GHG控除量ならびにシステム全体のGHG排出量（=GHG排出量-GHG控除量）を示した。各シナリオのシステム全体の排出量は、シナリオ1（堆肥化・焼却処理）が1,177 ton-CO₂年⁻¹と最も高く、次いでシナリオ2（メタン発酵-排水処理）の1,005 ton-CO₂年⁻¹、シナリオ3（メタン発酵-藻類培養）の777 ton-CO₂年⁻¹、シナリオ4（メタン発酵（秋期のみアルカリ処理）-藻類培養）の563 ton-CO₂年⁻¹となった。シナリオ1では堆肥化由来のGHG排出量は22 ton-CO₂年⁻¹と少ない一方、生ごみの焼却処理によるGHG排出量が大部分を占めている。また、シナリオ2では、メタン発酵処理のみを考えた場合、GHG排出量とGHG控除がほぼ等しい値となる一方で、液分残渣の排水処理に起因するGHG排出量が多く結果としてシステム全体のGHG排出量が多くなった。シナリオ3・4では排水処理の代わりに藻類培養を採用したことで、比較的少ないGHG排出量となった。特に、アルカリ加熱処理を秋期のみに行うシナリオ4においては、現行処理法（シナリオ1）と比較して約50%のGHG排出量の削減が可能となり、環境負荷低減の観点から最も有効であることが示された。



図(3)-14 各シナリオのGHG排出量ならびにGHG控除量。シナリオ1：堆肥化・焼却処理、シナリオ2：メタン発酵-排水処理、シナリオ3：メタン発酵-藻類培養、シナリオ4：メタン発酵（秋期のみアルカリ処理）-藻類培養

2) 経済性評価

図(3)-15に、水草30 ton day⁻¹と生ごみ20 ton day⁻¹を年間処理した際のコスト収支を示した。シナリオ1・2においてはシステム全体の支出が収入を超え、それぞれ年間2億円程度の支出額となった。システム1においては堆肥化（化学肥料削減）による収入が支出（燃料・減価償却費等）と比較して少なく、システム2では同様に売電による収入が支出（薬剤費・減価償却費）と比較して少ないためと考えられる。一方で、藻類培養による有価物生産が可能なシステム3・4では収入が支出を越え、それぞれ年間約4,000万円および6,000万円の収益、特に秋期のみアルカリ処理を行うシナリオ4で比較的高い値を示した。これらの結果から、メタン発酵と藻類培養を組み合わせることで、GHG排出量の削減に加え、収益を得られるシステムとなることが示された。なお、本コスト評価では、藻類バイオマスの原価をクロレラの価格を参考に2,500円 kg⁻¹に設定しているが、バイオマス価格は対象種によって変動し、スピルリナでは1,000円 kg⁻¹、ヘマトコッカスでは10,000円 kg⁻¹と概算されている¹⁷⁾。



図(3)-15 各シナリオのコスト収支計算結果。シナリオ1：堆肥化・焼却処理、シナリオ2：メタン発酵-排水処理、シナリオ3：メタン発酵（周年アルカリ前処理-藻類培養、シナリオ4：メタン発酵（秋期のみアルカリ前処理）-藻類培養

以上より、アルカリ加熱処理を秋期のみに行うシナリオ4において、LCA評価では現行処理法と比較して約50%のGHG排出量の削減が可能となり、環境負荷低減の観点から最も有効であることが示された。また、LCC評価では藻類培養により6,000万円の収入が見込まれることが示された。従って、琵琶湖で刈り取られた水草をメタン発酵処理し、その消化液を藻類培養に有効利用することで、地域内でバイオマス資源を循環利用可能な低環境負荷型社会の形成に貢献出来る。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

これまで30%しか分解しなかった難分解性の水草（センニンモ）をアルカリ処理により効率的に脱リグニンし、メタン変換率を大きく向上（約2倍）出来た。これにより実規模メタン発酵への実現可能性が拓かれた。また、水草のメタン生成量は、季節性よりも種組成の違いで決まること、つまり、種組成からメタンポテンシャルを推定可能であることを明らかにした。

アルカリ加熱処理後の水草と生ごみとの共消化メタン発酵は、①高いメタン変換率であったこと、②パフォーマンスが運転期間を通して安定していたこと、③投入湿重量あたりのメタン生成量が単消化の約3倍になること、という点から、実用性が高いプロセスである事が示され、実規模メタン発酵への実現可能性が開かれた。本技術は、日本のみならず、アジアやアフリカ等、世界各地で問題となっている水草の過剰繁茂に対する効果的な処理方法として適応可能である。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究により、メタン発酵技術を用いた水草の資源化およびその社会実装化に関する可能性を実証できた。実規模での処理に向けた算定基準となる基礎データを得ることができ、実際のプラントにおいてバイオガスとして得られるエネルギー量や処理コストの算定が可能となった。

得られたバイオガスは施設内での利用後、余剰分は固定価格買取制度（FIT制度）を利用した売電収入や、培養した微細藻類は高機能餌料・化粧品原料・天然着色料といった高次利用が可能である。微細藻類の収益を取り入れることで、プロセス全体の収支算定が明らかとなり、自治体の実証試験について考慮する際の積算根拠を提供した。

6. 国際共同研究等の状況

1) 創価大学大学院工学研究科における国際共同研究

1-1) 「微細藻類-硫酸化細菌共存系によるメタン発酵バイオガスの精製と藻類バイオマス生産」 (スペイン・バジャドリッド大学・ラウル・ムニョス教授との国際共同研究)

創価大学とバジャドリッド大学間でMOUを締結し、「藻類-バクテリア共存系を用いたバイオガス処理や汚水処理の研究」ならびに「爆砕処理による水草のメタン発酵の高効率化」に関する共同研究を2015年より実施している。2017年度より大学院博士前期課程のデュアルディグリープログラムを新設予定。

1-2) 「エチオピアにおける廃棄物処理による都市-農村地域の循環型農業」

(エチオピア・ジンマ大学・ベルハヌ・ビレイ教授との国際共同研究)

創価大学とジンマ大学間でMOUを締結し、「都市部における廃棄物のメタン発酵処理と栄養塩回収システム」ならびに「農村部における消化液を利用した増収栽培システム」の開発についての共同研究を2016年より実施している。

2) JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development (SATREPS)

「微細藻類の大量培養技術の確立による持続可能な熱帯水産資源生産システムの構築 The Project for Continuous Operation System for Microalgae Production Optimized for Sustainable Tropical Aquaculture (COSMOS)」

(マレーシア・プトラ大学、ファティマ・ユソフ教授らとの国際共同研究)

マレーシアにおける養殖産業より排出される多量の汚泥や汚水から栄養類を積極的に回収し、価値の高い微細藻類を大量生産することで、経済的インセンティブの獲得と環境保全を両立させる循環型システムの構築を目指す(2016年-2021年)。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) M. KOYAMA, S. YAMAMOTO, K. ISHIKAWA, S. BAN, and T. TODA: Biochem. Eng. J, 99, 124-130 (2015), Enhancing anaerobic digestibility of lignin-rich submerged macrophyte using thermochemical pre-treatment
- 2) M. KOYAMA, S. YAMAMOTO, K. ISHIKAWA, S. BAN, and T. TODA: Chem. Eng. J, 311, 55-62 (2017), Inhibition of anaerobic digestion by dissolved lignin derived from alkaline pre-treatment of an aquatic macrophyte
- 3) K. WATANABE, M. KOYAMA, J. UEDA, S. BAN, N. KUROSAWA, and T. TODA: Anaerobe, 47, 8-17 (2017), Effect of operating temperature on anaerobic digestion of the Brazilian waterweed *Egeria densa* and its microbial community
- 4) M. KOYAMA, K. WATANABE, S. YAMAMOTO, K. ISHIKAWA, S. BAN, and T. TODA: Bioresour. Technol, (2017), Effect of alkaline pretreatment on mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of a submerged macrophyte: inhibition and recovery against dissolved lignin during semi-continuous operation (in press)

<査読付論文に準ずる成果発表>

- 5) 小山光彦: 創価大学大学院工学研究科 博士後期課程 学位論文(2016)
「ANAEROBIC DIGESTION OF SUBMERGED MACROPHYTES -BIOCHEMICAL APPROACH FOR ENHANCING THE METHANE PRODUCTION」
- 6) 藤原正明: 創価大学工学部環境共生工学科 卒業論文(2016)
「琵琶湖南湖に優占する沈水植物のメタン発酵特性と化学組成の季節変化」
- 7) 関根睦実: 創価大学工学部環境共生工学科 卒業論文(2016)
「新規生物脱硫システムの構築に向けた硫黄酸化細菌の馴養」
- 8) 山田幸奈: 創価大学工学部環境共生工学科 卒業論文(2016)
「微細藻類 *Arthrospira platensis* を用いたアルカリ性・高炭酸塩培地によるCO₂回収プロセス」

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) M. Koyama, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban, and T. Toda: 5th International Symposium

- on Energy from Biomass and Waste, Venice, Italy, 2014
 “Anaerobic digestion of submerged macrophytes: biomethane potential, pre-treatment and the drawback”
- 2) 小山光彦、渡邊啓子、黒沢則夫、山本修一、石川可奈子、伴修平、戸田龍樹：第49回水環境学会年会（2015）
 「アルカリ処理を用いた沈水植物の中温/高温メタン発酵」
 - 3) M. Koyama, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban, and T. Toda : 3rd International Conference on Solid Waste, Kowloon Tong, Hong Kong, 2015
 “Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of submerged macrophytes: Effect of alkaline pre-treatment”
 - 4) K. Watanabe, J. Ueda, M. Koyama, K. Ishikawa, S. Ban, N. Kurosawa and T. Toda : 3rd International Conference on Solid Waste, Kowloon Tong, Hong Kong, 2015
 “Effect of operating temperature on anaerobic digestion of submerged macrophytes in microbial flora”
 - 5) 渡邊啓子、上田純子、小山光彦、石川可奈子、伴修平、黒沢則夫、戸田龍樹：第26回廃棄物資源循環学会研究発表会（2015）
 「オオカナダモをメタン発酵した際の温度の影響および微生物相の解析」
 - 6) 小山光彦、山本修一、石川加奈子、伴修平、戸田龍樹：平成27年度廃棄物資源循環学会関東支部研究発表会（2016）
 「沈水植物のメタン発酵処理におけるアルカリ処理の影響」
 - 7) 渡邊啓子、小山光彦、石川可奈子、伴修平、黒沢則夫、戸田龍樹：第50回日本水環境学会年会（2016）
 「水草の効率的なメタン発酵処理条件の検討ならびに微生物相の解析」
 - 8) 岸正敏、山田幸奈、戸田龍樹：第50回日本水環境学会年会（2016）
 「好アルカリ性微細藻類を用いたCO₂回収プロセスにおけるCO₂回収効率および炭素動態」
 - 9) 山田幸奈、岸正敏、片山智代、戸田龍樹：日本藻類学会第40回大会（2016）
 「微細藻類*Arthrospira platensis*を用いたアルカリ性高炭酸塩培地によるCO₂回収プロセス
 - 10) T. Toda and S. Ban : XII International Scientific Research Congress (XII CIC), Santo Domingo, Dominican Republic, 2016 (**Invited Speaker**)
 “Novel lake ecosystem management by sustainable harvesting and effective utilization of aquatic weed biomass”
 - 11) T. Toda, M. Koyama, M. Fujiwara, S. Akizuki, S. Yamamoto, K. Ishikawa, and S. Ban : 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
 “Biogasification potential of harvested submerged macrophytes”
 - 12) T. Toda and S. Ban : 3rd International Postgraduate Conference on Biotechnology (IPCB 2016), Surabaya, Indonesia, 2016 (**Keynote Speech**)
 “Creation of a recycling society - Novel lake ecosystem management by sustainable utilization of aquatic weed biomass”
 - 13) M. Kishi, Y. Yamada, T. Katayama and T. Toda : 3rd International Postgraduate Conference

on Biotechnology (IPCB 2016), Surabaya, Indonesia, 2016

“Two-phase bicarbonate-based CO₂ recovery system using *Arthrospira platensis*: recovery efficiencies and carbon mass flux”

- 14) H. Taira, M. Koyama, S. Akizuki, K. Ishikawa, S. Ban and T. Toda : 3rd International Postgraduate Conference on Biotechnology (IPCB 2016), Surabaya, Indonesia, 2016
 “Anaerobic Digestion of Thermochemically Pre-treated Submerged Macrophyte under Mesophilic and Thermophilic Conditions”
- 15) 藤原正明、小山光彦、秋月真一、渡邊啓子、石川可奈子、伴修平、戸田龍樹：廃棄物資源循環学会 第27回 研究発表会 (2016)
 「琵琶湖に優占する各種沈水植物の異なる季節における化学組成およびメタン生成量」
- 16) M. Koyama, K. Watanabe, N. Kurosawa, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban and T. Toda : 2016 Seminar Workshop on the Utilization of Waste Materials (WoW), Philippines, 2016
 “Effect of pre-treatment by-product on biomethane production from aquatic macrophytes.”
- 17) M. Kishi, Y. Yamada, T. Katayama, and T. Toda : Algal Biomass Summit, USA, 2016
 “Semi-continuous operation of two-phase bicarbonate-based CO₂ recovery system using *Arthrospira platensis*: Recovery efficiencies and carbon mass flux.”

(以下はポスター発表)

- 18) M. Koyama, K. Watanabe, N. Kurosawa, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban, and T. Toda : The 13th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies, Jerez de la Frontera, Spain, 2016
 “Effect of dissolved lignin on anaerobic digestion of alkali pre-treated aquatic macrophyte: inhibition and acclimatization” (ベストポスター受賞)
- 19) K. Watanabe, M. Koyama, J. Ueda, K. Ishikawa, S. Ban, and N. Kurosawa, T. Toda : 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
 “Anaerobic digestion of submerged macrophytes: alkaline pre-treatment enhances the methane conversion efficiency” (Poster)
- 20) M. Fujiwara, M. Koyama, S. Akizuki, K. Ishikawa, S. Ban and T. Toda : 3rd International Postgraduate Conference on Biotechnology (IPCB 2016), Surabaya, Indonesia, 2016
 “Chemical Composition and Methane Yield of Submerged Macrophytes Harvested in Different Seasons from Lake Biwa, Japan” (Poster)
- 21) 渡邊啓子、小山光彦、石川可奈子、伴修平、黒沢則夫、戸田龍樹：平成27年度廃棄物資源循環学会関東支部研究発表会 (2016)
 「Anaerobic digestion of submerged macrophytes *Potamogeton maackianus*: alkaline pre-treatment enhances the methane conversion efficiency」

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) びわ湖水草活用フォーラム 研究発表会（主催：公益社団法人 滋賀県環境保全協会、2015年9月14日、コラボしが21 3階 中会議室2、参加者30名）にて招待講演「メタン発酵技術と水草処理への応用」
- 2) 創価大学一般公開（平成27年8月2日－3日、講演参加者・展示来場者各約100名）にて本プロジェクトの概要ならびに成果紹介

講演：「循環型社会の形成に向けて」（中学・高校・大学生とその保護者が対象）

展示：「琵琶湖の水草問題に挑む！～増えすぎた水草からバイオエネルギーとクロレラを創る～」プロジェクト概要・成果の説明、琵琶湖で採取した巨大水草の水槽展示、小学生以下を対象に水草の名前当てゲームを実施

- 3) 展示会「BioJapan 2016」（主催：BioJapan組織委員会・株式会社JTBコミュニケーションデザイン、2016年10月14日、パシフィコ横浜、展示会来場者約5,000名（同時開催展含む）、講演参加者約30名）にて招待講演「水草バイオマスから微細藻類クロレラを作る」ならびにポスター展示での成果紹介
- 4) TAMA-TLO産学連携事業発表会2016（主催：タマティーエール株式会社、12月13日、八王子スクエアビル11階ギャラリーB、観客20名）にて特別講演「循環型社会形成のための要素技術としてのメタン発酵処理技術と微細藻類培養」
- 5) 創価大学一般公開（平成28年8月21日、講演参加者・展示来場者各約100名）にて本プロジェクトの概要ならびに成果紹介

講演：「循環型社会の形成に向けて」（中学・高校・大学生とその保護者が対象）

展示：「琵琶湖の水草問題に挑む！～増えすぎた水草からバイオエネルギーとクロレラを創る～」プロジェクト概要・成果の説明、琵琶湖で採取した巨大水草の水槽展示、小学生向け企画「MIZUKUSA GO」（琵琶湖の水草の名前当てゲーム）を実施

- 6) インターネット上での研究成果の継続的な発信（創価大学 修復生態学研究室ホームページ、2015年1月10日開設、アクセス数約5000、Facebook登録者70名）

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

- 1) M. Koyama, K. Watanabe, N. Kurosawa, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban, and T. Toda : The 13th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies, Jerez de la Frontera, Spain, 2016 においてベストポスター賞を受賞した。（発表タイトル：Effect of dissolved lignin on anaerobic digestion of alkali pre-treated aquatic macrophyte: inhibition and acclimatization）

8. 引用文献

- 1) E. Hamabata, S. Sugimura and K. Ishikawa: Lake Biwa: Interactions Between Nature and People (Springer Science+Business Media, Tokyo), 471 (2012)

- The explosive development and control of aquatic weeds
- 2) 芳賀裕樹、石川可奈子：陸水学雑誌，77，55-64（2016）
琵琶湖南湖における2014年夏の沈水植物の現存量分布ならびに2002，2007，2012年との比較
 - 3) M. Koyama, S. Yamamoto, K. Ishikawa, S. Ban, and T. Toda: Ecol. Eng., 69, 304-309 (2014)
Anaerobic digestion of submerged macrophytes: Chemical composition and anaerobic digestibility
 - 4) J. B. Van Lier, J. L. S. Martin, and G. Lettinga: Water Res., 30(1), 199-207 (1996)
Effect of temperature on the anaerobic thermophilic conversion of volatile fatty acids by dispersed and granular sludge
 - 5) T. P. Kandel, S. Sutaryo, H. B. Møller, U. Jørgensen and P. E. Lærke: Bioresour. Technol., 130, 659-666 (2013)
Chemical composition and methane yield of reed canary grass as influenced by harvesting time and harvest frequency
 - 6) Z. Chi, J. V. O' Fallon and S. Chen: Trends biotechnol., 29(11), 537-541 (2011)
Bicarbonate produced from carbon capture for algae culture
 - 7) M. Bahr, I. Díaz, A. Dominguez, A. González Sánchez, and R. Muñoz: Environ. Sci. Technol., 48, 573-581 (2014)
Microalgal-biotechnology as a platform for an integral biogas upgrading and nutrient removal from anaerobic effluents
 - 8) R. Petri, L. Podgorsek and J. F. Imhoff: FEMS Microbiol. Lett., 197(2), 171-178 (2001)
Phylogeny and distribution of the soxB gene among thiosulfate-oxidizing bacteria
 - 9) K. Watanabe, N. Nagao, T. Toda, and N. Kurosawa: World J. Microbiol. Biotechnol., 25(5), 803-811 (2009)
The dominant bacteria shifted from the order "*Lactobacillales*" to *Bacillales* and *Actinomycetales* during a start-up period of large-scale, completely-mixed composting reactor using plastic bottle flakes as bulking agent
 - 10) 環境省：環境省ホームページ
<http://www.env.go.jp/earth/ondanka/lca/lcaguideline/guideline02.pdf>, (2012)
バイオガス関連事業のLCAに関する補足ガイドライン Ver.1.0
 - 11) American Public Health Asspciation: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th edn. Washington DC, USA (1998)
 - 12) P. J. Van Soest, J. B. Robertson and B. A. Lewis: J. Dairy Sci., 74(10), 3583-3597 (1991)
Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition
 - 13) 柴田晃，後藤洋一，中嶋亮太：日本プランクトン学会報，53(1)，64-68（2006）
SYBR Gold染色による海水中の細菌およびウイルスの計数
 - 14) R. J. A. Little and D. B. Rubin: Soc. Methods & Research 18(2-3), 292-326 (1989)

The analysis of social science data with missing values

- 15) V. Julliand, A. de Vaux, L. Millet and G. Fonty: *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(8), 3738-3741 (1999)

Identification of *Ruminococcus flavefaciens* as the predominant cellulolytic bacterial species of the equine cecum

- 16) K. Zhang, L. Song, and X. Dong: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60(9), 2221-2225 (2010)

Proteiniclasticum ruminis gen. nov., sp. nov., a strictly anaerobic proteolytic bacterium isolated from yak rumen

- 17) J. Benemann: *Energies*, 6(11), 5869-5886 (2013)

Microalgae for biofuels and animal feeds

(4) 嫌気発酵液分残渣を用いた藻類大量培養技術の確立

滋賀県立大学

環境科学部	環境生態学科	教授	伴 修平
環境科学部	環境生態学科	准教授	後藤 直成
環境科学部	生物資源管理学科	教授	須戸 幹

<研究協力者>

滋賀県立大学	環境科学部	PD	木村 成子 (平成26~27年度)
滋賀県立大学	環境科学部	PD	刘 鑫 (平成28年度)

平成26~28年度累計予算額：50,382,700円（うち平成28年度：15,134,000円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

水草の安価な処理方法は嫌気発酵によるバイオガス化だが、その液分残渣（消化液）に含まれる高濃度の栄養塩除去には課題が残る。微細藻類は、生活排水や嫌気発酵消化液から栄養塩を除去する高い能力を有すると共に、それら自体が高機能性飼料として利益還元することができる有価物である。本研究では、水草を原料としたメタン発酵消化液を用い、微細藻類の培養方法について検討し、消化液中に含まれる栄養塩の除去、および消化液から微細藻類を大量生産する技術を確立した。水草のメタン発酵消化液に含まれる栄養塩は、一般的な藻類培地より多く、例えば、リン ($\text{PO}_4\text{-P}$) と窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$) は、それぞれ80-120、1,150-1,360 mg L^{-1} が含まれる。アンモニアは藻類にとって毒性を有するため、消化液は希釈・施用しなければならないが、実験の結果、微細藻類 *Chlorella sorokiniana* (クロレラ) の収量は10倍希釈のとき最も高くなることが分かった。しかし、ここで得られた収量と栄養塩除去率は、共に一般的な藻類培地で得られるものより低かった。添加成分を検討した結果、これは消化液中にマグネシウム (Mg) が不足しているためであることが分かった。即ち、消化液にMgを添加することによって、クロレラの最大収量を得ることができ、栄養塩除去率を向上させることができた。屋外での10-Lのリアクターを用いたクロレラの連続培養実験では、消化液1L当たり6 g dry-weight以上のクロレラを生産することができ、さらに90%以上の栄養塩除去率を達成することができた。また、このときクロレラ収量には、日積算光量と有意な正の相関関係が認められ、日射量が低下する季節には、照明が必要であることも分かった。更に、メタン発酵で生成されるバイオガスを藻類リアクターへ曝気することで、バイオガス中に含まれる CO_2 によってpHが低下し、これがMg溶出を促進する可能性が示唆された。即ち、消化液中のMg不足は、新たに添加することなく、pHを調整するだけで解決できることが分かった。これは、微細藻類を大量培養する際のコスト削減、およびメタンガスの純度向上に貢献できるものと考えられた。

[キーワード]

微細藻類大量培養、栄養塩除去、メタン発酵消化液、Mg不足、バイオガス

1. はじめに

水草は、元来、水質浄化あるいは魚類の産卵場所や仔稚魚の生育場所として機能しているため、適度に存在することで、水域生態系を健全に保ために機能していると考えられている。しかし、近年は、琵琶湖を含む日本各地の水域で、水草の大量繁茂による環境悪化が報告されるようになってきた。

水草は、僅か50年前まで農地に施用する肥料として頻りに刈り取られていたが、安価で便利な化成肥料の普及によって、現在では全く利用されない現状である。現在、琵琶湖の水草は、根こそぎ除去されているが、これが湖の環境へ与える影響についてはほとんど考慮されていない。即ち、水草大量繁茂の原因の一端は、刈り取られた水草の利活用にあると言える。

水草バイオマスの再資源化については、これまでにバイオエタノール化が検討されてきたが、エネルギー回収効率や費用の観点から研究は進んでいない。また、「食品リサイクル法」に基づく、食品循環資源（廃野菜や生ゴミ）の再生利用実施率は、平成31年度までに95%を達成する目標設定がなされているにもかかわらず、現在は25-58%に留まっている。水草や廃野菜、生ゴミなど有機廃棄物を基質としたメタン発酵では、これまでは基質中の炭素成分からのエネルギー回収のみが注目されてきた。一方で、メタン発酵液分残渣は、富栄養化の原因物質であるリンや窒素を大量に含んでいるため、その安価な処理方法が検討課題の一つであり、メタン発酵による有機廃棄物処理の普及を遅らせている主な原因の一つでもある。

微細藻類は、生活排水、畜産廃液、メタン発酵液分残渣からの高い栄養塩除去能力を有すると共に、それら自体が高機能性飼料として利用可能と考えられる。そこで、琵琶湖から除去された水草および生ゴミなどの生物資源を用いたメタン発酵による液分残渣の処理および有効利用のため、本研究では、その液分残渣およびバイオガス中のCO₂を有効利用した微細藻類大量培養技術の開発を試みた。

2. 研究開発目的

(1) 嫌気発酵液分残渣を用いた微細藻類の最適培養条件の検討

本実験では、異なる水草を原料としたメタン発酵液分残渣（消化液）の組成成分を分析した。それらの液分残渣を用いた微細藻類の培養実験を行い、最大収量を得るための培養条件を求めた。

(2) 微細藻類バイオマス大量培養技術の確立

水草を原料としたメタン発酵消化液を用いた微細藻類培養の最適条件については、まだ不明な部分が多い。そこで、本実験では、消化液を用いた微細藻類の最適増殖条件について検討した。実験室において、微細藻類培養による、消化液中に含まれる栄養塩の効率的除去について調べた。

(3) 嫌気発酵液分残渣およびバイオガス中のCO₂を有効利用した藻類大量培養技術の実証実験

上記実験により、メタン発酵消化液を用いた微細藻類培養において、その最大収量を得るにはMgの添加が必要であることが分かった。そこで本実験では、消化液およびバイオガスに含まれるCO₂を利用し、微細藻類大量培養の実証実験を行うことで、実証レベルにおける微細藻類の生産量と栄養塩の除去率について調べた。

3. 研究開発方法

(1) 嫌気発酵液分残渣を用いた微細藻類の最適培養条件の検討

1) 水草を原料としたメタン発酵消化液の化学特性

本実験では、4種の異なる水草、即ち、オオカナダモ、コカナダモ、センニンモ、マツモおよびこれら3種の混合（オオカナダモ：コカナダモ：センニンモ=2：2：6で混合）を原料としたメタン発酵液分残渣（消化液）について、それぞれ遠心分離後、膜フィルター（孔径：0.45 μm ）で濾過した濾液の化学特性を調べた。実験には、各濾液の栄養塩（ $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ ）濃度、NP比、溶存有機炭素（DOC）と金属濃度をオートアナライザー（AACS-II、BRAN+LUEBBE、Germany）、CHNコーダー（SUMIGRAPH NCH-22A、SCAS、Osaka、Japan）、全炭素測定装置およびICP発光分光分析装置（SII SPS3100、Hitachi、Japan）を用いてそれぞれ測定した。対照区としてのC培地（Ichimura 1971、Provasoli and Pintner 1959）についても同様に分析を行った。

2) 消化液の最適希釈倍率および最適な微細藻類の検討

消化液は、1000 mg L^{-1} 超のアンモニア態窒素を含んでおり、それ自体が微細藻類の増殖阻害物質であるため、その原液を用いた藻類培養は困難である。そこで、本実験では、まず、微細藻類の増殖に最適な消化液希釈倍率を調べた。微細藻類は、アンモニア耐性の高い緑藻類3種：*Chlorella sorokiniana*、*Chlorella vulgaris*と*Chlamydomonas reinhardtii*を用いた。本実験では、10、25、50と100倍希釈のコカナダモ消化液を用いて、それぞれ3種の藻類を培養し、それらの増殖曲線を求めた。対照実験として、C培地を用いた藻類培養も行った。次に、10倍希釈のコカナダモおよびオオカナダモ消化液を用いて、試験管（10mL）あるいは96孔培養プレートにて、*C. sorokiniana*（以後、クロレラ）を培養し、その増殖曲線を比較した。培養条件は、温度25 $^{\circ}\text{C}$ 、光量子束密度110 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期12D:12Lである。試験管と培養プレートは、振とう培養器にてそれぞれ10 rpm（TR-118、Tube Rotator、AS ONE、Osaka、Japan）と60 rpm（SHM-2002、Shaking Mixer、LMS、Tokyo、Japan）で撹拌した。培養開始後、毎日1回、試験管と96孔プレートについて、それぞれ680と405 nmで吸光度（OD）を測定した。

3) 消化液を用いた微細藻類培養における最適条件の検討：C培地成分添加実験

(1) - 2) の実験結果により、10倍希釈の消化液を用いた藻類培養の最終収量は、C培地を用いた場合と比べて、その半分程度だった。この差が、栄養塩不足によるものか、また増殖阻害物質の存在によるものかを調べる必要がある。本実験では、C培地を加えた3つの異なる希釈倍率（10、25と50倍）のコカナダモとオオカナダモの消化液を用いてクロレラを培養し、成長状況を比較した。培養には試験管（10mL）を用いた。培養条件と方法は(1) - 2) の実験と同じである。培養開始後、毎日1回680 nmでODを測定した。

(2) 微細藻類バイオマス大量培養技術の確立

1) 消化液中の不足成分の特定

(1) の実験結果から、水草を原料としたメタン発酵消化液にはクロレラの成長にとって不足する成分のあることが分かった。そこで、本実験では、C培地から1成分のみを除いて10倍希釈の消化液に添加してクロレラを培養することによって、その不足成分を特定した。培養方法と分析項目は(1) - 3) の実験と同じである。培養開始日および終了日の各栄養塩（ $\text{PO}_4\text{-P}$ と $\text{NH}_4\text{-N}$ ）濃

度を測定し、除去率を算出した。

2) Mg添加量による微細藻類の増殖および栄養塩除去率

(2)-1)の実験結果により、クロレラの最大収量を得るためには、消化液中にMgが不足していることが分かった。そこで本実験では、異なるMg添加条件におけるクロレラの成長と栄養塩除去率を調べた。実験には、Mgを段階的(C培地の1/2、1/4、1/8、1/1)に添加した10倍希釈のコカナダモとオオカナダモの消化液を用いてクロレラを培養した。培養条件および分析項目は(2)-1)の実験と同じである。

3) Mg添加消化液を用いた微細藻類培養実験における栄養塩収支

本実験では、C培地当量のMgとCaを添加したコカナダモ消化液を用いてクロレラを培養し、消化液と藻体の窒素とリンの物質収支を調べ、窒素とリンが藻体として回収されているか確かめた。実験には1Lの三角フラスコを用い、対照区として、クロレラを入れない場合を設けた。培養条件は(2)-1)の実験と同じである。消化液のpH、栄養塩($\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ および $\text{PO}_4\text{-P}$)濃度とPOP濃度およびPON濃度を測定し、窒素とリンの物質収支を算出した。

4) 実証装置稼働に向けた条件検討：濾過滅菌と70℃・1時間滅菌の比較

実装機レベルでは、消化液は孔径0.2 μm のフィルターを用いた濾過滅菌が難しい。本実験では、中温メタン発酵の消化液について、濾過滅菌と70℃・1時間滅菌したものに、それぞれC培地と同量のMgのみを添加した消化液とC培地を添加した消化液を用いてクロレラを培養し、クロレラの増殖曲線を比較した。対照区として未処理の消化液とC培地についても実験を行った。培養方法と分析項目は(1)-3)の実験と同じである。

(3) 嫌気発酵液分残渣およびバイオガス中の CO_2 を有効利用した藻類大量培養技術の実証実験

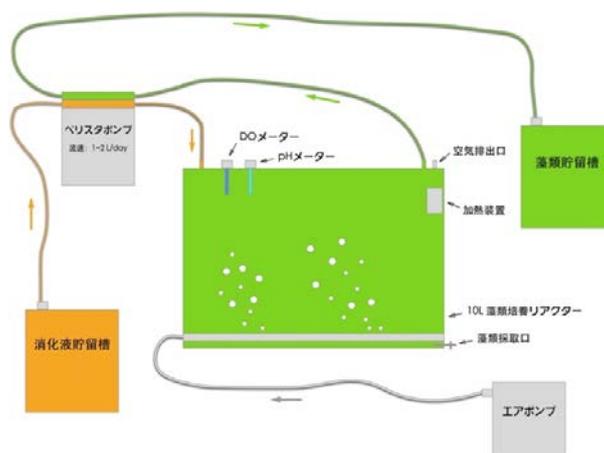
本実験は、滋賀県立大学の湖沼実験施設敷地内に設置したビニールハウス(約20 m^2)にて行った(図(4)-1A)。本研究では、メタン発酵残渣を遠心分離処理(5000 rpm、10分間、CR 20E、Hitachi、Tokyo、Japan)で抽出した消化液について、加熱滅菌処理(70℃・1時間)(DK600、Yamato、Tokyo、Japan)を施した後、藻類培地として用いた。実験には、LED付き(光強度：約220 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)の10-Lフラットパネル型藻類培養リアクター(図(4)-1B)計3台を用いて、ペリスタポンプ(MP-3000、EYELA、Tokyo、Japan)にて消化液を連続的に供給し、5-10日の滞留時間(HRT)で、クロレラの連続培養を行った。(1)の実験結果より、消化液に含まれる高濃度のアンモニアは藻類の成長を阻害するため、消化液は10倍希釈した後に用いた。



図(4)-1. (A) 滋賀県立大学湖沼実験施設敷地内に設置したビニールハウス、(B) LED付き10-Lフラットパネル型藻類培養リアクター

1) 200 L発酵装置による共消化メタン発酵液分残渣を用いた藻類大量培養実証実験

本実験では、まず、共消化（水草＋生ゴミ）メタン発酵液分残渣（共消化液）を用いて、クロレラの連続培養を行い、消化液に含まれる高濃度の栄養塩の除去および藻類の大量生産の可能性を検証した。培養実験のプロセスは、図(4)-2に示した。

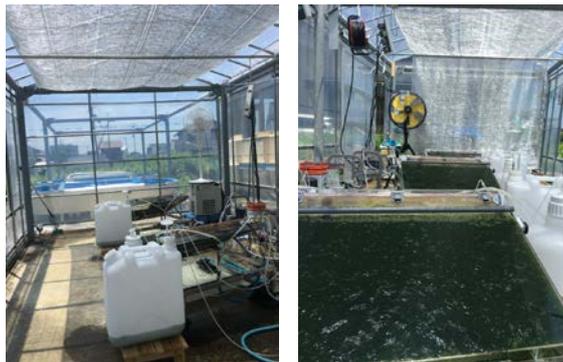


図(4)-2. 消化液を用いた微細藻類の連続培養実証実験のプロセス

a Mg添加消化液を用いた藻類連続培養実験

本実験では、平成28年7月2日から8月11日に、Mg添加した共消化液を用いて、微細藻類の連続培養を行った。実験には、10倍希釈した共消化液にC培地と同量のMg ($0.04 \text{ g L}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) を添加したものを、藻類培養基質として使用した。クロレラの初期濃度を $2 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ に調整した共消化液の藻類混合液を培養リアクターに入れ、曝気条件にてHRT 5日間で連続培養を行った。

夏季の強い太陽輻射 ($>2,600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) の影響により、ビニールハウス内は極めて高温になった (ca. 50°C)。この高温下は、クロレラ生存の上限温度を超えるため、夏季には、湖水、水循環装置、遮光シート、そして扇風機などによって、藻類培養リアクターを冷却した(図(4)-3)。



図(4)-3. 湖水、水循環装置、遮光シート、および扇風機を用いた藻類リアクターの冷却

藻類サンプルは毎日採取し、血球計算盤 (Thoma, Tokyo, Japan) にて細胞数密度を測定した後、GF/Fフィルター (Φ: 47 mm, Whatman, England) で藻類を濾過し、乾重量から藻類収量を求めた。濾過液については、オートアナライザーにて、 $\text{NH}_4\text{-N}$ および $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度を測定し、それぞれの除去率を求めた。Mg濃度は、ICP分光装置を用いて測定した。CHNコーダーおよびオートアナライザーにて、セストンC、N、P量を測定し、C/N、C/P、N/P比を求めた。温度、pH、溶存酸素 (DO) 濃度は、pHメーター (PH-230SDJ, Satoshoji, Tokyo, Japan) およびDOメーター (WA-2017SDJ-DO, Satoshoji, Tokyo, Japan) を用い15分間隔で記録した。日照時間や光強度は、滋賀県立大学に設置された気象装置のデータを利用した。

b pH調整消化液を用いた藻類培養実験

先行研究によると、液分残渣の溶存Mg濃度はpH依存である。残渣処理のコストを削減するためには、Mgを添加しない方法が望ましい。そこで本実験では、発酵液分残渣からの栄養塩除去率と微細藻類収量を最大化するため、液分残渣のpH調整による効果を調べた。また、秋季の日照不足により、クロレラの成長制限を緩和するため、LED照明による光量の補償を試みた。本実験では、平成28年9月5日から10月26日に、共消化液のpHとHRTの調整、およびLED照明による光量の調整を組み合わせた4つの条件、即ち、実験1) pH、5; HRT、5日; LED照明なし、実験2) pH、6.5; HRT、5日; LED照明なし、実験3) pH、6.5; HRT、10日; LED照明なし、実験4) pH、6.5; HRT、10日; LED照明あり、の順に連続培養を行った。全ての実験区について、藻類サンプルは1-2日毎に採取した。測定と分析項目は、(3)-1)-aと同様に行った。

2) 200 L発酵装置による単消化メタン発酵液分残渣を用いた藻類大量培養実証実験

本実験では、平成28年11月11日から12月6日に、単消化 (水草のみ) メタン発酵液分残渣 (単消化液) を用いたクロレラ大量培養の実証実験を行った。冬季の気温低下や日射量不足の影響で、クロレラの成長が制限されたため、本実験では、HRT 10日で、加熱 (25-30°C) およびLED照明条件にて、微細藻類の培養実験を行った。

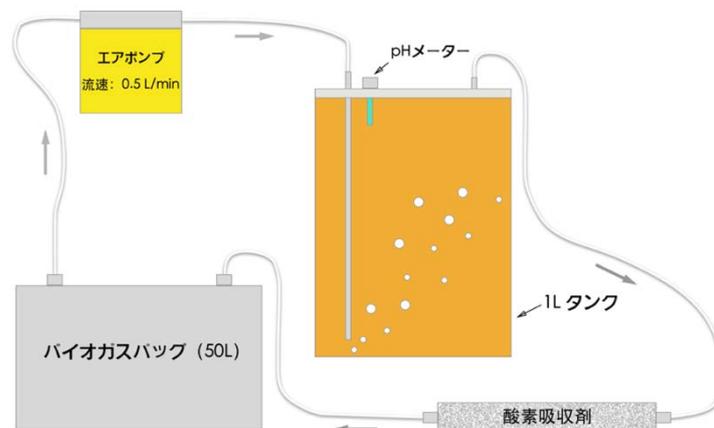
本実験は、1)と同様にMg添加およびMg未添加実験を行った。単消化液は光透過性が悪いため、本実験では、クロレラの初期濃度を $4 \times 10^6 \text{ cell mL}^{-1}$ とした。Mg添加実験では、(3)-1)-aと同量のMgを添加した。Mg未添加実験では、pH6.5に調整した単消化液を用いた。藻類サンプルの採取および測定と分析項目は、(3)-1)-bと同様に行った。

3) バイオガス中のCO₂を用いた微細藻類大量培養実証実験

a) バイオガスを用いた単消化液のpH調整実験

バイオガス中にはCO₂が約5割含まれている (Lakaniemi et al. 2013) ので、微細藻類の培養に、これを有効活用することができる。消化液中へバイオガスを曝気すると、CO₂が消化液に吸収される過程でpHが低下し過ぎることによって、藻類の成長に負の影響がでてしまう。そこで本実験では、まず、バイオガス循環条件による消化液のpH変動を調べ、培養条件について検討した。

バイオガス循環による消化液のpH調整プロセスを図(4)-4に示した。バイオガスを充たした50 Lのガスバッグから、10倍希釈単消化液の入った1 Lタンクに、密閉条件にてバイオガスを循環した (ガス流速: 0.5 L min⁻¹)。その際、消化液に含まれる溶存酸素がバイオガスへ混入するのを防ぐために、酸素吸収装置 (A-250HS, ISO Ltd., Yokohama, Japan) を通した。消化液のpHは、pHメーターにて1分間隔で記録した。ガス循環後、ガスクロマトグラフィー (GC-14A, Shimadzu, Kyoto, Japan) およびガス検出器 (GV-110S, GASTEC, Kanagawa, Japan) にて、CH₄とCO₂の量を測定した。



図(4)-4. バイオガスに含むCO₂を用いた消化液のpH調整実験のプロセス

b) バイオガス循環後の消化液を用いた微細藻類の培養実験

本実験は、2016年12月23日から2017年1月12日の期間、バイオガス循環にて、pHを6.5に調整した単消化液を用いて、微細藻類を連続培養した。サンプル採取と測定および分析項目などについては、(3)-2)の実験と同じである。

4. 結果及び考察

(1) 嫌気発酵液分残渣を用いた微細藻類の最適培養条件の検討

1) 水草を原料としたメタン発酵消化液の化学特性

各水草 (オオカナダモ、コカナダモ、センニンモ、マツモ、混合) を原料とした消化液のDOC、PO₄-PとNH₄-N濃度は、それぞれ245-512、80-120、1150-1360 mg L⁻¹だった (表(4)-1)。N/P比は9-13だった (表(4)-1)。原料とした水草によってメタン発酵消化液に含まれる金属組成が明らかに異なることが分かる (表(4)-2と図(4)-5)。いずれの水草を原料とした場合も消化液の栄養成分濃度は、C培地のそれらより高いことから、いずれの消化液にも微細藻類成長に必要な栄養分は十分含まれていることが分かる。そして、マツモと混合水草消化液には鉄 (Fe) が高いこと、センニンモ消化液にはマグネシウム (Mg) とマンガン (Mn) が高いこと、そしてオオカナダモとコカ

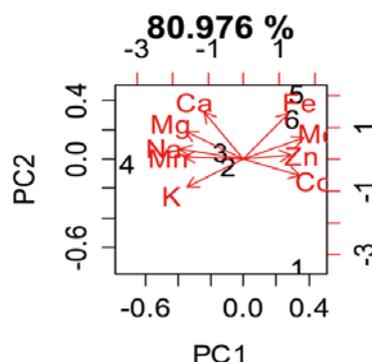
ナダモの消化液には、約同量の各金属量が含まれていることが分かる（表(4)-2）。

表(4)-1. 5種類の水草を原料とした消化液中に含まれるDOC、PO₄-P、NH₄-N濃度（mg L⁻¹）とN/P比

mg/L	DOC	PO ₄ -P	NH ₄ -N	N/P
オオカナダモ	512	80	1246	13
コカナダモ	245	88	1151	12
センニンモ	276	124	1293	11
マツモ	471	112	1252	9
混合*	275	110	1357	9
C培地		5**	23***	4.5

表(4)-2. 5種類の水草を原料とした消化液中に含まれる金属濃度（mg L⁻¹）

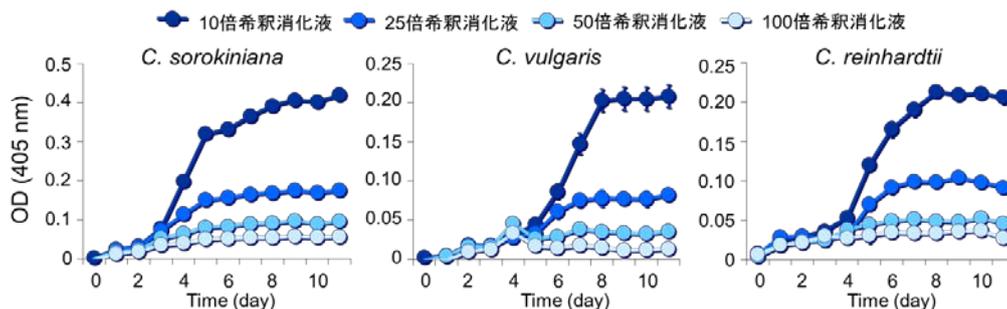
mg/L	Fe	Mn	Zn	Co	Mo	Mg	Na	K	Ca	Ni	Cu	Al	Cd	Cr
オオカナダモ	0.618	0.106	0.324	0.009	0.004	7.0	127	374	61	0.006	0.018	1.8	-	-
コカナダモ	0.582	0.089	0.316	0.008	0.006	6.1	144	396		0.003	0.030	1.9	-	-
センニンモ	0.355	0.451	0.219	0.008	0.003	15.0	169	501	63	0.007	0.011	2.8	-	-
マツモ	1.094	0.089	0.311	0.009	0.009	7.4	96	174	53	0.013	0.024	1.9	-	-
混合*	1.117	0.108	0.598	0.010	0.007	5.7	125	314	58	0.013	0.055	3.4	-	-
C培地	0.122	0.030	0.015	0.003	0.003	3.89	7.7	39	25	-	-	-	-	-



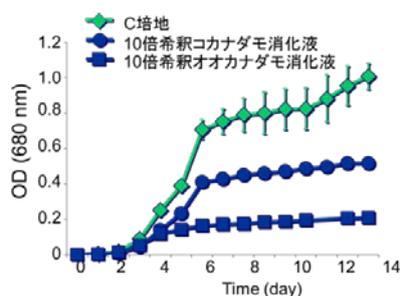
図(4)-5. 異なる水草を原料とした消化液中に含まれる金属濃度を用いた主成分分析結果

2) 消化液の最適希釈倍率および最適な微細藻類の検討

異なる希釈倍率のコカナダモ消化液を用いた3種の緑藻類において、いずれも10倍希釈の消化液を用いた場合の収量が最も高かった（図(4)-6）。従って、以後の実験では全て10倍希釈の消化液を用いることとした。また、*C. sorokiniana*の成長が最も高かったので、以後の実験は全て本種を用いて行った。次に、本種を用いて10倍希釈したコカナダモとオオカナダモの消化液を用いた培養実験を行ったところ、収量はC培地実験のそれと比べて、それぞれ1/2と1/8程度だった（図(4)-7）。この原因は、希釈消化液中に藻類成長に必要な栄養塩が不十分であったか、あるいは、増殖阻害物質が含まれていたためと考えられた。



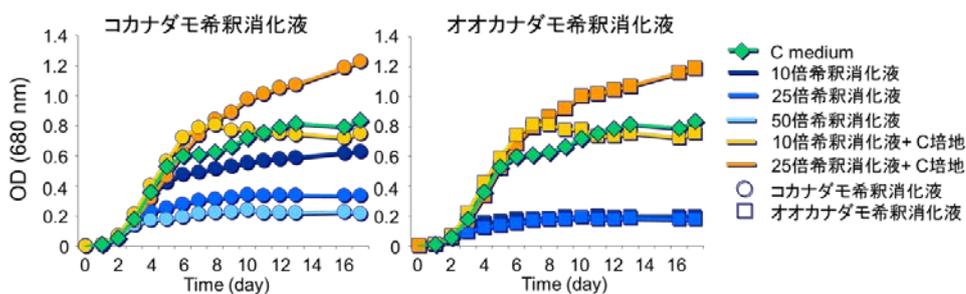
図(4)-6. コカナダモ希釈(10、25、50、100倍)消化液を用いた*Chlorella sorokiniana*、*Chlorella vulgaris*と*Chlamydomonas reinhardtii*培養実験の藻類増殖曲線



図(4)-7. コカナダモとオオカナダモの10倍希釈消化液およびC培地を用いた*C. sorokiniana*培養実験の増殖曲線

3) 消化液を用いた微細藻類培養における最適条件の検討：C培地成分添加実験

コカナダモとオオカナダモの希釈消化液を用いた実験では、クロレラ収量は、(1)–(2)の実験結果と同様に、全ての場合においてC培地のそれを下回った(図(4)-8)。一方、C培地を添加した希釈消化液では、実験終了時、10倍と25倍希釈消化液において、その収量はC培地のそれと比べて、それぞれ約1.0倍と1.5倍だった(図(4)-8)。



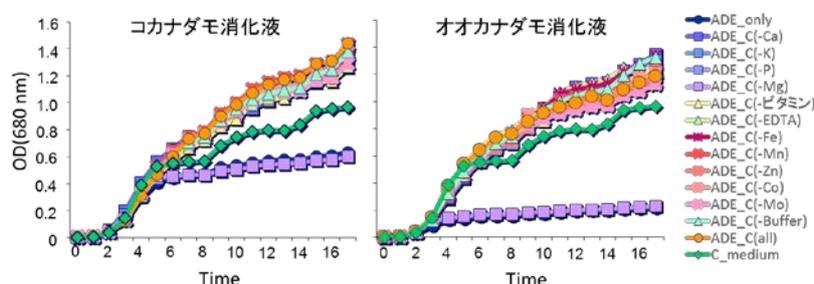
図(4)-8. コカナダモとオオカナダモの希釈(10、25、50倍)消化液およびC培地添加の希釈(10倍と25倍)消化液を用いたクロレラ培養実験の増殖曲線

(2) 微細藻類バイオマス大量培養技術の確立

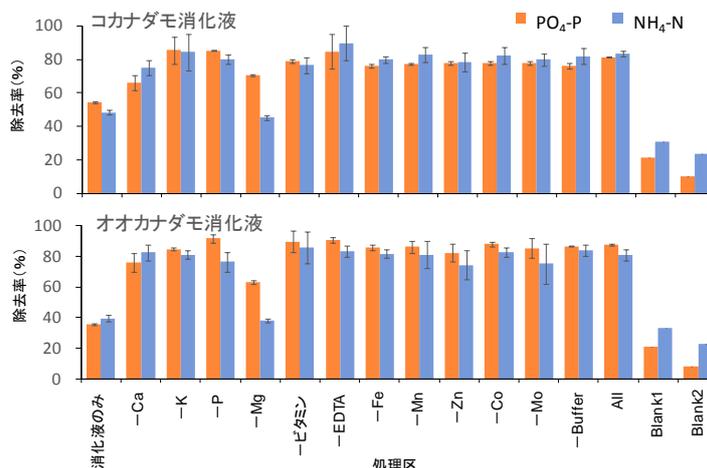
1) 消化液中の不足成分の特定

C培地を添加した10倍希釈コカナダモとオオカナダモの消化液を用いたクロレラ培養実験においてクロレラ最終収量は、ODでそれぞれ1.44と1.19であり、Mg以外の各成分を除いたC培地添加区におけるクロレラ最終収量は、コカナダモとオオカナダモの消化液で、それぞれODで1.27–1.43

および1.12-1.35だった（図(4)-9）。一方、10倍希釈消化液のみでの最終収量は、どちらの水草消化液でもMgを除いたC培地添加区と同程度で、コカナダモ消化液ではODで0.63と0.60、オオカナダモ消化液では、0.22と0.23であった（図(4)-9）。即ち、どちらの水草消化液についても、クロレラの最大収量を得るには、Mgが不足していたことが分かった。



図(4)-9. 各1成分を除いたC培地添加実験。例えば、Caを除いたC培地は、ADE_C(-Ca)と表した。コカナダモとオオカナダモの10倍希釈消化液を用いたクロレラ培養実験の増殖曲線

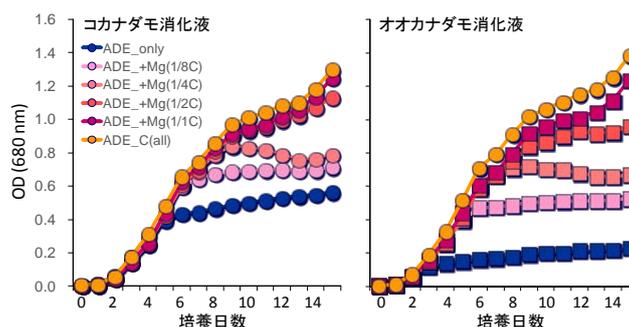


図(4)-10. 各1成分を除いたC培地添加実験における、栄養塩 ($\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$) 除去率 (%)

$\text{PO}_4\text{-P}$ と $\text{NH}_4\text{-N}$ の除去率は、消化液のみの処理区では60%以下だったが、C培地添加区では、どちらの水草消化液においても80%を上回った（図(4)-10）。Mgを除くC培地添加区（-Mg）における栄養塩除去率は、 $\text{PO}_4\text{-P}$ で60-70%、 $\text{NH}_4\text{-N}$ で40-50%とC培地添加区に比べて低い。その他の成分を除いたC培地添加区では、 $\text{PO}_4\text{-P}$ と $\text{NH}_4\text{-N}$ の除去率は、それぞれ76-90と74-90%であり、C培地添加区と同程度であった。

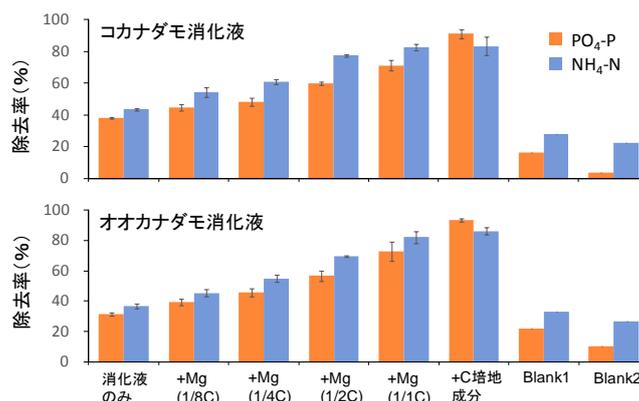
2) Mg添加量による微細藻類の増殖および栄養塩除去率

Mg不足を確かめるため、Mgのみを添加したときのクロレラ増殖曲線を求めた（図(4)-11）。C培地当量のMgを添加した場合、クロレラ収量はC培地添加の場合と同程度だった。そして、Mg添加量が減少するに伴ってクロレラ収量も減少した。このことは、消化液中には、クロレラの最大収量を得るためのMgが不足しており、Mgのみを添加することによって最大収量が得られることを明らかにした。



図(4)-11. コカナダモとオオカナダモの10倍希釈消化液を用いたクロレラ培養実験における、Mg添加量（C培地の1/2、1/4、1/8、1）による増殖曲線の比較

このときの栄養塩除去率を比較すると、未処理の消化液では $\text{PO}_4\text{-P}$ と $\text{NH}_4\text{-N}$ の除去率は、それぞれ32-38と37-44%と低かった（図(4)-12）。一方、C培地添加区では、それぞれ91-93%と83-86%であり、C培地当量のMg添加区においても、それぞれ71-73と82-83%といずれも高い値だった（図(4)-12）。これら栄養塩除去率は、Mg添加量が低下するに従って減少する傾向を示した。

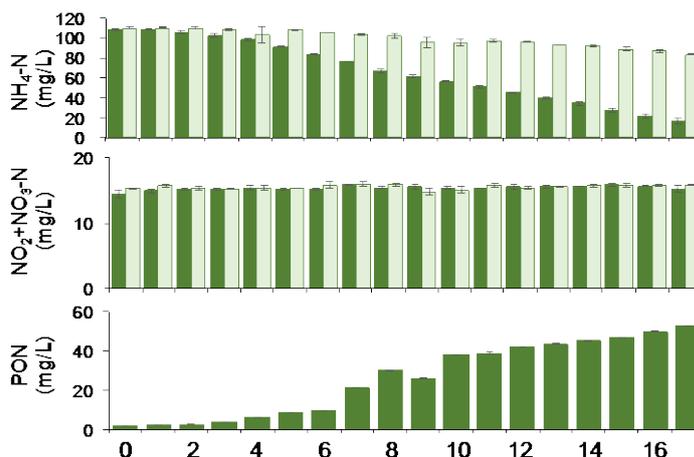


図(4)-12. コカナダモとオオカナダモの10倍希釈消化液を用いたクロレラ培養実験における、Mg添加量（C培地の1/2、1/4、1/8、1）による栄養塩（ $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ ）除去率（%）

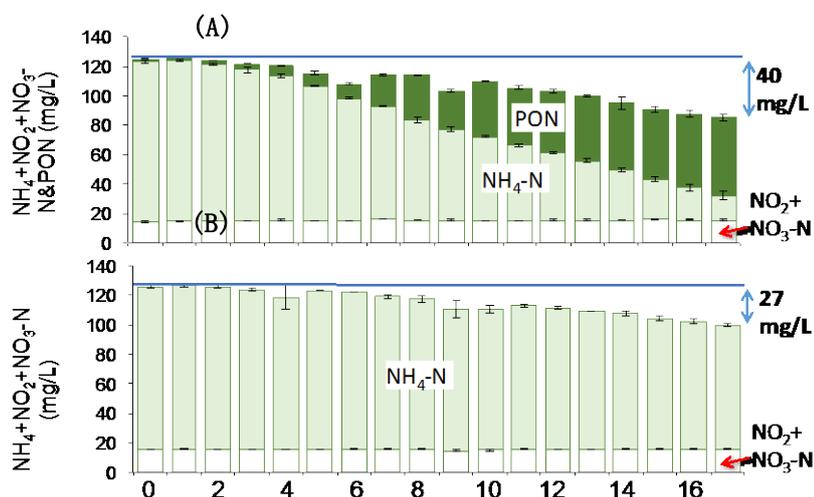
3) Mg添加消化液を用いた微細藻類培養実験における栄養塩収支

ココナダモ消化液にMgとCaを添加したときのクロレラ培養実験における実験区と対照区の $\text{NH}_4\text{-N}$ の初期濃度は、約 110 mg L^{-1} だったが、実験最終日には、対照区と実験区では、それぞれ 84 と 17 mg L^{-1} まで減少した（図(4)-13）。実験区と対照区における $\text{NO}_2\text{-N}+\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は、約 15 mg L^{-1} で安定していた。PON濃度は、培養日数に伴って増加し、実験最終日には 53 mg L^{-1} まで増加した。

実験区（ $\text{NH}_4\text{-N}+\text{NO}_2\text{-N}+\text{NO}_3\text{-N}+\text{PON}$ ）と対照区（ $\text{NH}_4\text{-N}+\text{NO}_2\text{-N}+\text{NO}_3\text{-N}$ ）の全窒素量の経時変化を図(4)-14に示した。実験期間を通して $\text{NH}_4\text{-N}$ からPONへ変換されることが分かるが（図(4)-14A）、対照区でも実験終了時に 27 mg L^{-1} 減少しているのは、 $\text{NH}_4\text{-N}$ が蒸発によって失われたことを示す（図(4)-14B）。即ち、実験区では初期溶存Nのおよそ6割が藻体として固定され、2割が蒸発で失われたことになる。



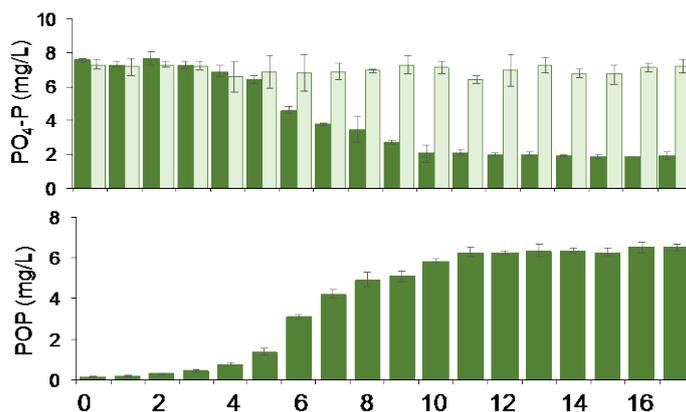
図(4)-13. Mgを添加したコカナダモの消化液を用いたクロレラ培養実験の $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2+\text{NO}_3\text{-N}$ とPON濃度 (mg L^{-1})。対照区（薄緑）にはクロレラを入れなかった。



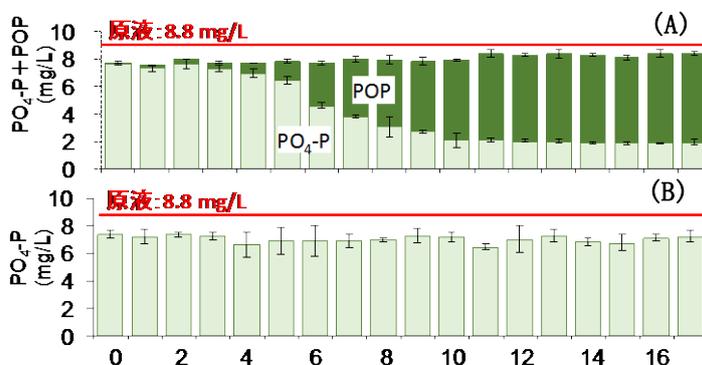
図(4)-14. Mgを添加したコカナダモ消化液を用いたクロレラ培養実験の窒素収支 (A) 実験区、(B) 対照区。濃緑はPON、薄緑は $\text{NH}_4\text{-N}$ 、白抜は $\text{NO}_2+\text{NO}_3\text{-N}$ をそれぞれ示す。

一方、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の初期濃度は約 7.6 mg L^{-1} だったが、実験区では、培養開始4日目以降減少し初め、11日目から終了時まで 2.0 mg L^{-1} で安定した。これに対して、対照区では、減少傾向はみられず $6.3\text{--}7.3 \text{ mg L}^{-1}$ で安定的に推移した（図(4)-15）。実験区のPOP濃度は 0.2 mg L^{-1} から徐々に増加し、11日目には 6.3 mg L^{-1} に達し、実験終了まで安定的に推移した。

実験区（ $\text{PO}_4\text{-P}+\text{POP}$ ）と対照区（ $\text{PO}_4\text{-P}$ ）の全リン量の経時変化を図(4)-16に示した。実験期間を通して、実験区と対照区の全リン量は同程度であり、実験区では、消化液中の溶存無機リンの75%が藻体として回収された。ところで、Mg添加前の原液の全リン量は 8.8 mg L^{-1} であり、Mg添加直後に14%程度減少したことが分かる（図(4)-16）。これは同時に添加したCaと共にリンが沈澱したためと考えられる。



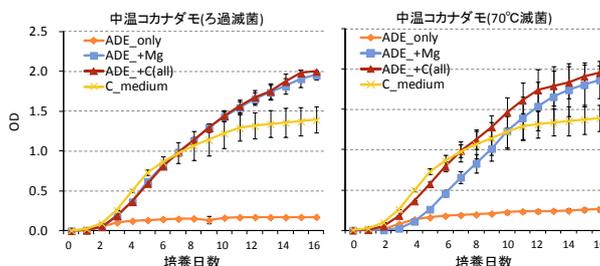
図(4)-15. Mgを添加したコカナダモ消化液を用いたクロレラ培養実験の PO_4 -PとPOP濃度 ($mg L^{-1}$)。薄緑は対照区。



図(4)-16. Mgを添加したコカナダモ消化液を用いたクロレラ培養実験のリン収支 (A) 実験区、(B) 対照区。濃緑はPOP、薄緑は PO_4 -Pをそれぞれ示す。

4) 実証装置稼働に向けた条件検討：濾過滅菌と70℃・1時間滅菌の比較

濾過滅菌の消化液と70℃・1時間滅菌の消化液について、クロレラ培養実験を行った。クロレラ増殖曲線は、いずれの処理区に置いてもどちらの滅菌処理において同様の増殖曲線を描いた(図(4)-17)。このことは、滅菌方法の違いによって実験結果に違いが生じないことを担保しており、実装置レベルでの実験には、より簡便な70℃・1時間滅菌を用いることとした。



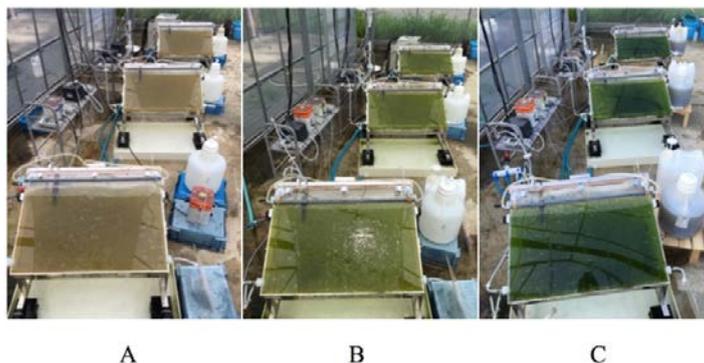
図(4)-17. 濾過滅菌と70℃・1時間滅菌のコカナダモ消化液(消化液のみ、Mg添加、C培地添加)とC培地を用いたクロレラ培養実験の増殖曲線

(3) 嫌気発酵液分残渣およびバイオガス中のCO₂を有効利用した藻類大量培養技術の実証実験

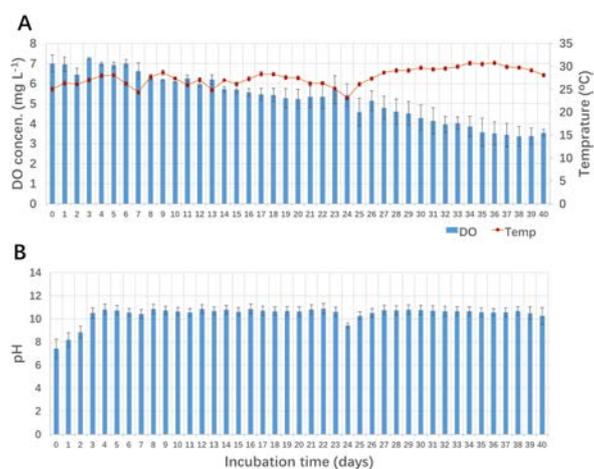
1) 200 L発酵装置による共消化メタン発酵液分残渣を用いた藻類大量培養実証実験

a Mg添加消化液を用いた藻類連続培養実験

クロレラの連続培養の実証実験の様子を図(4)-18に示した。本実験は40日間行った。培養液のDO濃度と温度は、それぞれ3.4-7.2 mg L⁻¹と23.1-30.8°Cで推移した(図(4)-19A)。DO濃度は、水温依存であり、温度上昇に伴って低下する傾向を示した。培養開始時のpHは、7.4であり、4日目では10.8に上昇し、実験終了まで9.4-10.8で変動した(図(4)-19B)。



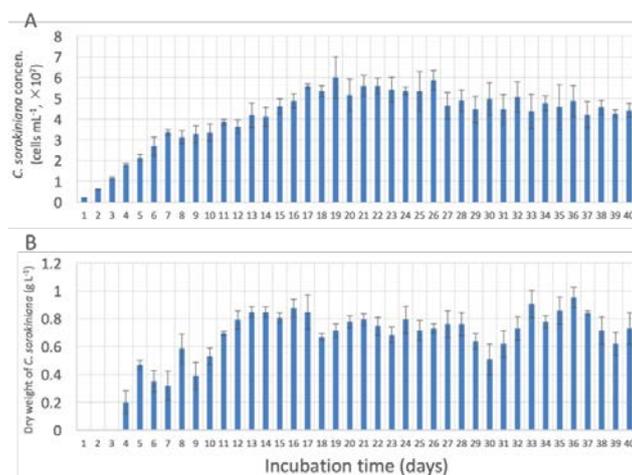
図(4)-18. Mg添加共消化液を用いたクロレラの連続培養実験；A、B、Cはそれぞれ培養1、2、3日目



図(4)-19. 共消化Mg添加実験の (A) 溶存酸素 (DO) 濃度 (mg L⁻¹) と水温 (°C)、(B) pH

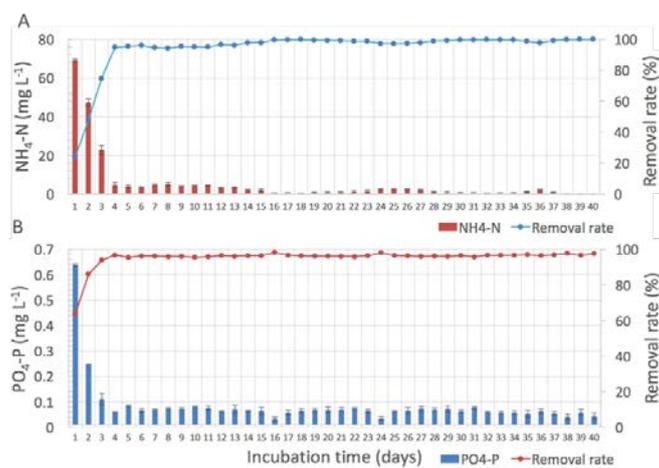
クロレラの細胞数密度は、培養開始から増加し、培養17日目以降、 5×10^7 cells mL⁻¹前後で安定した(図(4)-20A)。藻体収量は、培養13日目から実験終了まで0.51-0.95 gDW L⁻¹であり、平均で0.76 gDW L⁻¹だった(図(4)-20B)。

10倍希釈した共消化液のNH₄-NおよびPO₄-P濃度は、それぞれ90.3と1.76 mg L⁻¹だった。培養開始4日目で、NH₄-NとPO₄-P濃度は、それぞれ、4.8と0.06 mg L⁻¹に減少し、実験終了時まで、それぞれ0.1-5.3と0.03-0.08 mg L⁻¹だった(図(4)-21)。NH₄-NとPO₄-Pの除去率は、いずれも培養4日目以降、すでに94%を上回っており、実験終了時まで、それぞれ94.6-99.9%と95.3-98.2%だった(図(4)-21)。

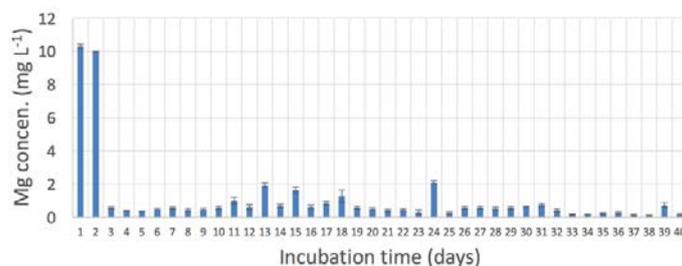


図(4)-20. 共消化Mg添加実験のクロレラの (A) 細胞数密度 (cells mL^{-1}) と (B) 収量 (g L^{-1})

10倍希釈共消化液のMg濃度は、 10.6 mg L^{-1} だった。クロレラ培養開始後、Mg濃度は、3日目には 0.6 mg L^{-1} に低下し、実験終了時まで $0.1\text{--}2.1 \text{ mg L}^{-1}$ で変動した (図(4)-22)。



図(4)-21. 共消化Mg添加実験の栄養塩濃度 (mg L^{-1}) と除去率 (%)、(A) $\text{NH}_4\text{-N}$ 、(B) $\text{PO}_4\text{-P}$

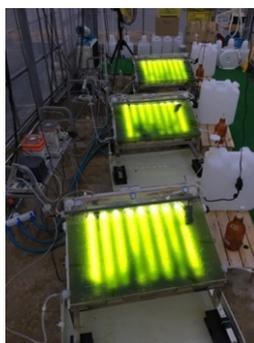


図(4)-22. 共消化Mg添加実験のMg濃度 (mg L^{-1})

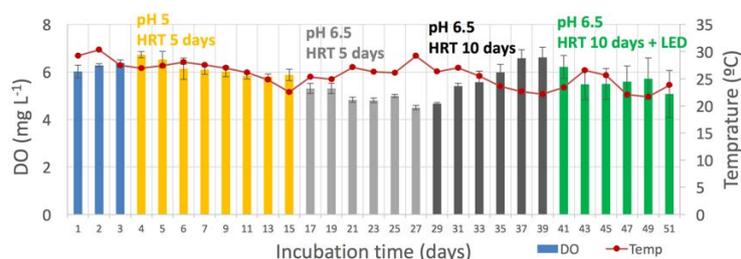
b) pH調整消化液を用いた藻類培養実験

pH調整消化液による実験は51日間行った。LED照明を用いた藻類培養実験の様子を図(4)-23に示した。本実験における日平均水温とDO濃度は、それぞれ $16.3\text{--}30.3^\circ\text{C}$ と $4.5\text{--}6.9 \text{ mg L}^{-1}$ であった (図

(4)-24)。

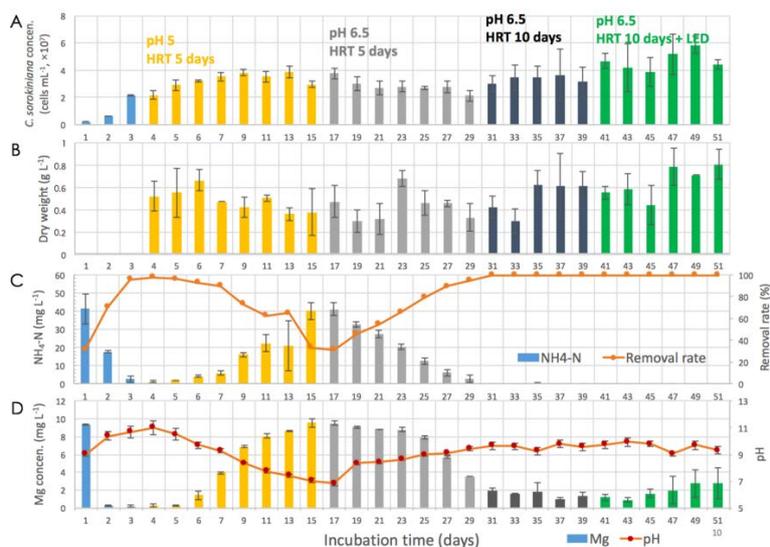


図(4)-23. LED照明にて消化液を用いた微細藻類培養

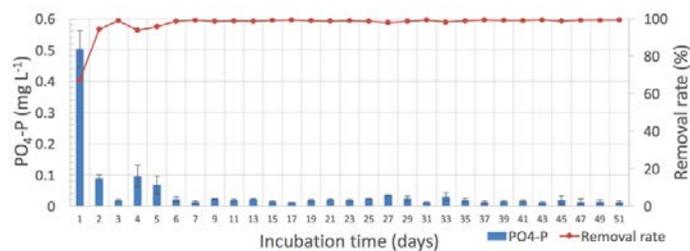


図(4)-24. 共消化Mg未添加実験の溶存酸素濃度 (DO, mg L⁻¹) と水温 (°C) ; 実験1、黄 ; 実験2、グレー ; 実験3、黒 ; 実験4、緑

クロレラ細胞数密度は、9日目まで増加した後、実験1、2、3ではおよそ 3×10^7 cells mL⁻¹で安定し、実験4では 5×10^7 cells mL⁻¹に達した (図(4)-25A)。実験1、2、3での平均藻体収量は0.5 g dry-weight L⁻¹であり、実験4では、0.65 g dry-weight L⁻¹だった (図(4)-25B)。培養開始後4日目のNH₄-N除去率は98%だったが、実験1の最終日には32%まで低下した。しかし実験2では、再び増加し、29日目には95%を上回った。そして実験3と4では、ほぼ100%だった (図(4)-25C)。一方、PO₄-Pの除去率は、いずれの実験でも95%以上だった (図(4)-26)。Mg濃度は培養開始2日後に9.7から0.3 mg L⁻¹まで激減したが、実験1の期間に9.6 mg L⁻¹まで増加した (図(4)-25D)。実験2では再び3.5 mg L⁻¹まで低下し、実験3、4では2 mg L⁻¹で安定した (図(4)-25D)。pHは培養開始時には8.7だったが、実験1では16日目に6.8まで低下し、実験2では9.3、実験3と4では9.5まで上昇した (図(4)-25D)。



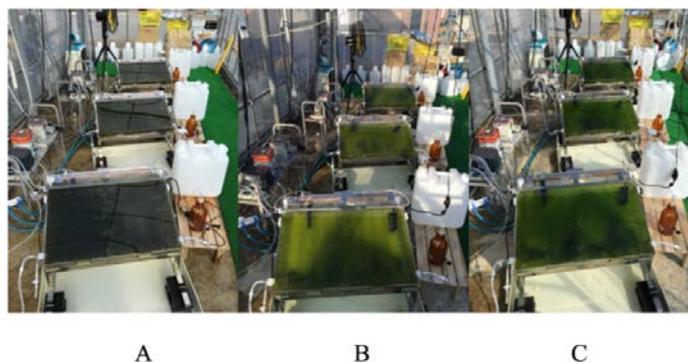
図(4)-25. pH調整共消化液によるMg未添加実験での、クロレラの (A) 細胞数密度、(B) 収量、(C) $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度 (mg L^{-1}) と除去率 (%)、(D) Mg濃度とpHを示す。実験1, 黄; 実験2, グレー; 実験3, 黒; 実験4, 緑



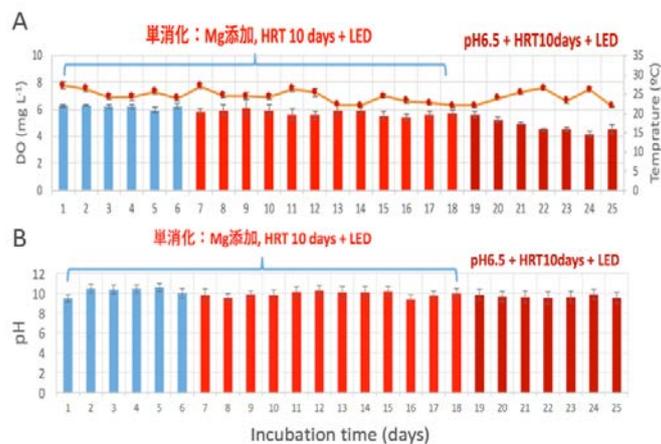
図(4)-26. pH調整共消化液によるMg未添加実験での、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度 (mg L^{-1}) と除去率 (%)

2) 200 L発酵装置による単消化メタン発酵液分残渣を用いた藻類大量培養実証実験

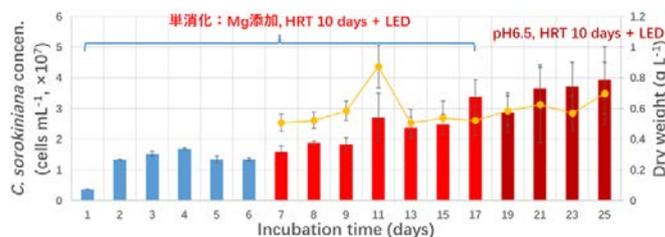
本実験は25日間行った。図(4)-27は、単消化液分残渣を用いたクロレラ培養実験の様子を示す。10倍希釈した単消化液は (図(4)-27A)、共消化液 (図(4)-18A) より黒く、光透過性が悪いことが分かる。



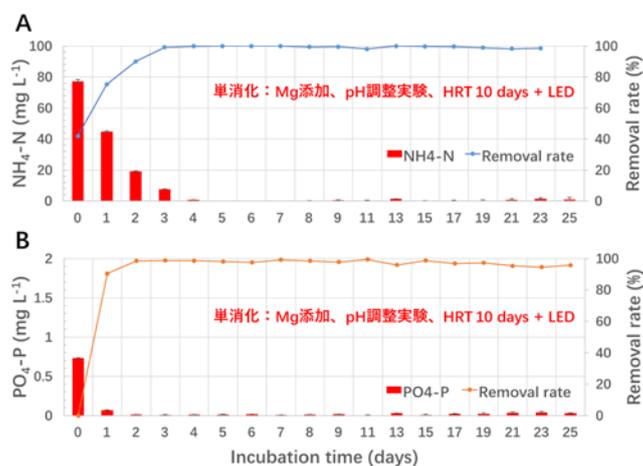
図(4)-27. 単消化液を用いたクロレラの連続培養実験; A、B、Cはそれぞれ培養1、2、3日目



図(4)-28. 単消化Mg添加およびpH調整実験の (A) 溶存酸素 (DO) 濃度 (mg L⁻¹) と水温 (°C)、 (B) pH



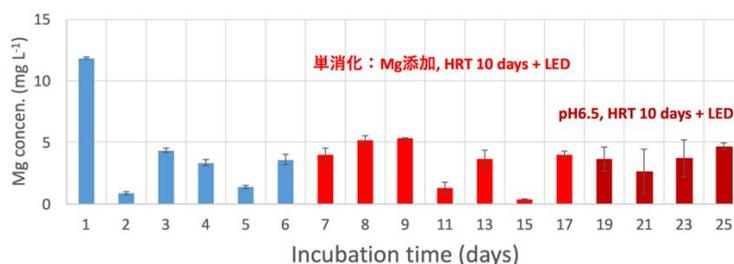
図(4)-29. 単消化Mg添加およびpH調整実験 (pH6.5、day19-25) のクロレラの細胞数密度 (棒、cells L⁻¹) と収量 (●、g L⁻¹)



図(4)-30. 単消化Mg添加およびpH調整実験 (pH6.5、day19-25) の栄養塩濃度 (mg L⁻¹) と除去率 (%)、 (A) NH₄-N、 (B) PO₄-P

本実験の日平均水温とDOは、それぞれ21.8-27.3°Cと4.2-6.3 mg L⁻¹だった (図(4)-28A)。培養開始時のpHは8.6であり、2日目から10.5に上昇し、実験終了時まで9.4-10.6で変動した (図(4)-28B)。クロレラの平均細胞数密度は、Mg添加実験とpH調整実験では、それぞれ2.7×10⁷ cell mL⁻¹と3.5×10⁷ cells mL⁻¹だった (図(4)-29)。藻体収量は、いずれも0.6 gDW L⁻¹だった。10倍希

積した単消化液の $\text{NH}_4\text{-N}$ および $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は、それぞれ77.3と0.73 mg L^{-1} だった。それらの除去率は、培養開始4日目以降から、いずれも94%以上だった（図(4)-30）。10倍希釈した単消化液のMg濃度は13.5 mg L^{-1} だった。Mg濃度は、培養開始2日間で13.5 mg L^{-1} から0.8 mg L^{-1} に激減し、実験終了まで、0.4-5.3 mg L^{-1} だった（図(4)-31）。

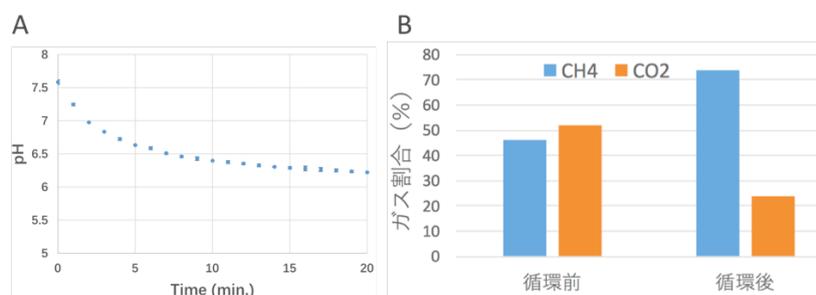


図(4)-31. 単消化Mg添加およびpH調整実験 (pH6.5、day19-25) における溶存Mg濃度 (mg L^{-1})

3) バイオガス中の CO_2 を用いた微細藻類大量培養実証実験

a バイオガスを用いた単消化液のpH調整実験

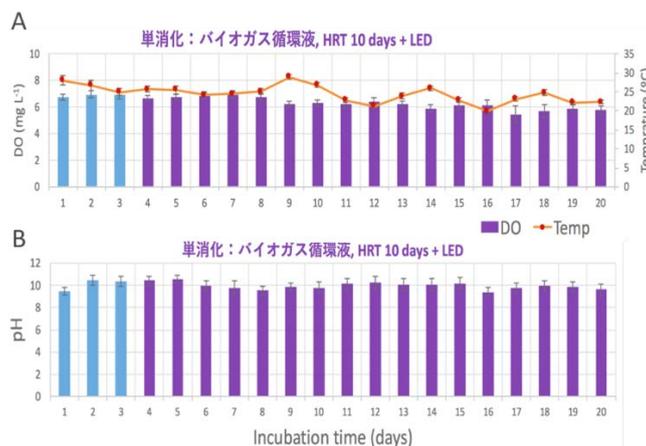
単消化液のpHは、バイオガス循環開始から10分程度で、7.6から6.5以下に低下した（図(4)-32A）。pH6.5は、クロレラの成長には不適だが、単消化液1L当たり約0.3Lの CO_2 を吸収したことになり、バイオガス中の CH_4 の純度を46%から74%に向上することに貢献した。この操作によりバイオガス中の CO_2 は、52%から24%まで低下した（図(4)-32B）。従って、消化液へのバイオガス循環によって、塩酸を添加することなく、消化液のpHを調整できることが分かった。このことは、バイオガスに含まれる CO_2 を有効利用することができ、微細藻類大量培養のコスト削減、およびメタンガスの純度向上にも貢献できることを示唆した。



図(4)-32. (A) 10倍希釈した単消化液のpHとバイオガス循環時間との相関関係、(B) バイオガス循環前と循環後における各 CH_4 と CO_2 の割合

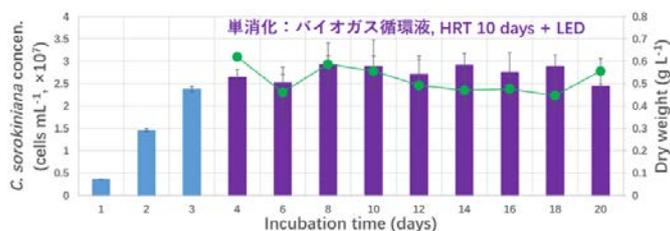
b バイオガス循環後の消化液を用いた微細藻類の培養実験

本実験は20日間行った。日平均水温と D_0 は、それぞれ19.9-28.8°Cと5.4-6.9 mg L^{-1} であった（図(4)-33A）。培養開始時のpHは8.7であり、2日目から10.5に上昇し、実験終了時まで9.4-10.6で変動した（図(4)-33B）。

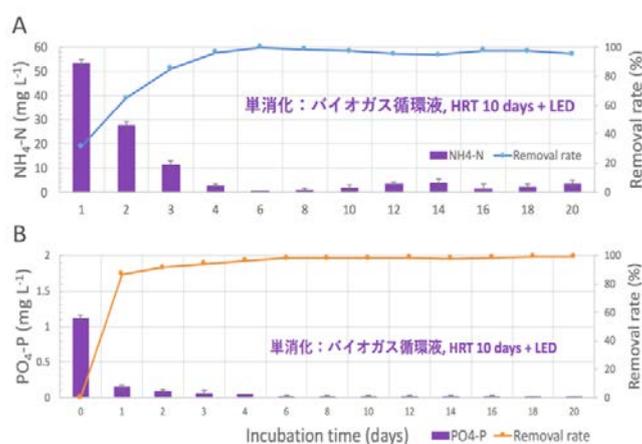


図(4)-33. バイオガス循環液実験の (A) 溶存酸素 (DO) 濃度 (mg L⁻¹) と水温 (°C)、(B) pH

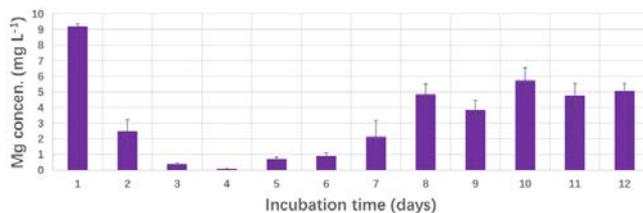
クロレラの細胞数密度は、培養開始4日目から 3×10^7 cells mL⁻¹程度で安定し、平均藻体収量は0.5 gDW L⁻¹だった (図(4)-34)。NH₄-Nの除去率は、培養開始4日目で96%であり、以後は常に94%以上だった (図(4)-35A)。PO₄-Pの除去率は、培養開始2日目で91%であり、以後は常に94%以上だった (図(4)-35B)。Mg濃度は、培養開始2日間で10.3 mg L⁻¹から2.5 mg L⁻¹に激減するものの、7日目から増加し、以後は実験終了時まで4.0-5.8 mg L⁻¹で推移した (図(4)-36)。



図(4)-34. バイオガス循環液実験のクロレラ細胞数密度 (cells mL⁻¹) と収量 (g L⁻¹)



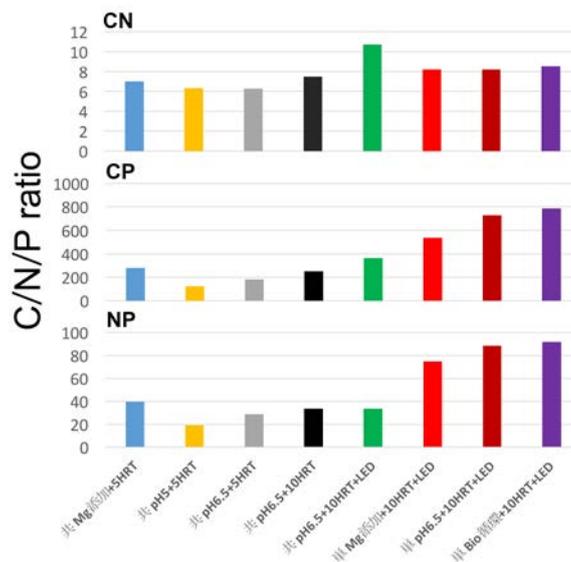
図(4)-35. バイオガス循環液実験の栄養塩濃度 (mg L⁻¹) と除去率 (%)、(A) NH₄-N、(B) PO₄-P



図(4)-36. バイオガス循環液実験のMg濃度 (mg L⁻¹)

4) 総合討論

全ての実証実験において、セストンC/N比は6-10だったが、C/P比とN/P比はそれぞれ120-790と20-90だった(図(4)-37)。(3)-1-bの実験1(共pH5、5HRT)では、藻類の光合成が弱かったため、セストンC/P比とN/P比は、最も低かった。単消化液のPO₄-P濃度(0.73 mg L⁻¹)は、共消化液(1.76 mg L⁻¹)より低いため、単消化実験でのセストンC/P比とN/P比は、共消化実験より高かった。



図(4)-37. 各実証実験におけるセストンC/N/P比

表(4)-3. 一般化線形モデル：温度、pH、積算光量とそれらの相互作用がクロレラの成長に与える影響

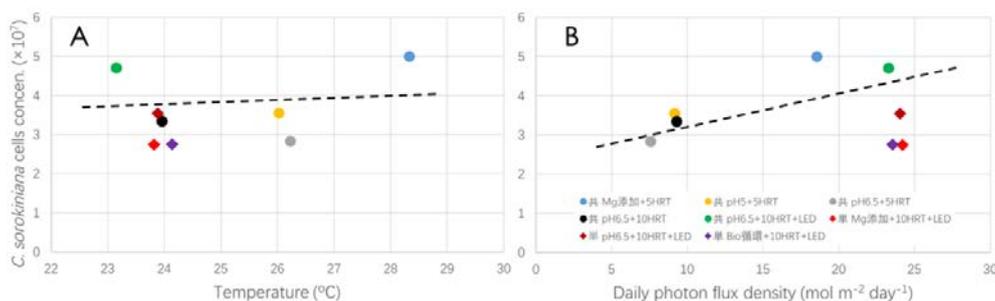
環境要因	Wald χ^2	d.f.	P値
温度	0.667	1	0.414
pH	0.133	1	0.716
積算光量	4.039	1	0.044
温度×pH	0.761	1	0.383
温度×積算光量	12.352	1	<0.001
pH×積算光量	-	-	-
温度×pH×積算光量	-	-	-

-: Unable to compute due to numerical problems

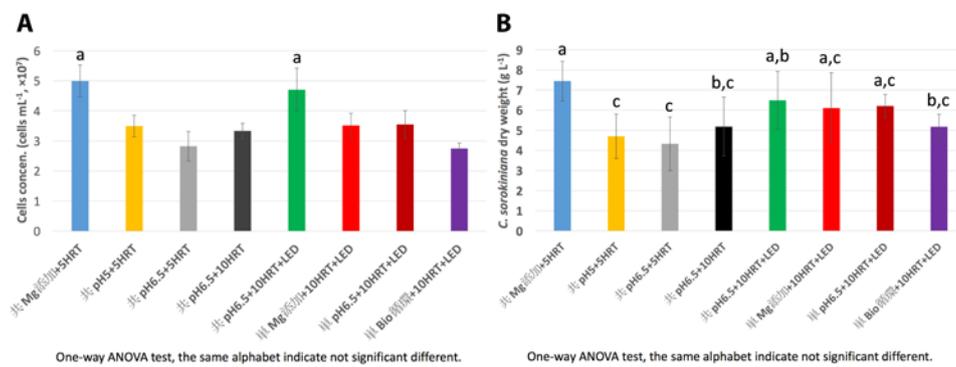
一般化線形モデルは、クロレラの平均細胞数密度が、温度およびpHには影響されないが、日積算光量に影響されることを示した(表(4)-3、図(4)-38)。従って、日射量の低下する秋～冬期に

藻類の最大収量を得るためには、照明が必要と考えられる。また、温度と日積算光量との間に交互作用が見られたことから（表(4)-3）、積算光量が藻類の成長に与える影響は、温度依存であることが分かった。

クロレラは広い水温とpH範囲で増殖可能であり、野外における大量培養に適していた。本種は、液分残渣のpHを調整することで、Mg未添加区でも、Mg添加区と同程度に増殖することができた（図(4)-39A）。全ての実証実験において、藻体収量は消化液1L当たり4.3-7.6 g dry weightが得られた（図(4)-39B）。これら収量は、共消化液と単消化液で同程度だった。



図(4)-38. 各実証実験において、クロレラの細胞数密度は (A) 温度と (B) 日積算光量との相関関係



図(4)-39. (A) 各実証実験におけるクロレラの平均細胞数密度 (cells mL^{-1})、(B) 液分残渣1L当たりの藻類平均収量 (g L^{-1})

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究は、琵琶湖に大量繁茂した水草をメタン発酵処理することによって得られる発酵消化液を用いて微細藻類を大量培養するための基礎的技術を確立し、ベンチスケールでの実証実験に成功した。消化液中にはリンや窒素など豊富な栄養塩が存在するが、マグネシウム (Mg) のみ不足することが明らかとなった。このため、Mg を添加しないと微細藻類の最大収量を得ることはできず、高い栄養塩除去率も達成できない。しかし、Mg のみ添加することでこれらは全て解決される。この Mg 不足は Mg が生物利用性の低い形態で存在するために生じていることが示唆され、pH 調整によって Mg 不足が解決されることも明らかにできた。

メタン発酵で生成されるバイオガスの4割ほどは CO_2 によって占められる。これを藻類培養に利

用することができれば、カーボンオフセットとバイオガス精製の両方に貢献することができる。本研究では、消化液中にバイオガスを曝気することで pH を低下させ、消化液中の溶存 Mg 濃度を高め、Mg 添加せずクロレラの最大収量と高い栄養塩除去率を達成することができた。これらの基礎的知見は、メタン発酵消化液を使った微細藻類培養を低コストで実施するため、また生成されるメタンガスの純度を向上させるために欠くことのできない技術となる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

現在、家畜糞尿排水や都市排水等に含まれる窒素の安価な処理法の開発は危急の課題である。本研究成果は、微細藻類を用いた窒素除去法を提案できるだけでなく、藻体自身を高機能餌料等の有価物として利益還元することができる。バイオガス中に含まれる CO₂ を微細藻類バイオマス変換することで、温暖化ガス排出の削減にも貢献できる。

食品リサイクル法に基づく「食品循環資源の再生利用等の促進に関する基本方針（平成 27 年 7 月公表）」において、平成 31 年度までに再生利用等実施率は、食品製造業で 95%、食品卸売業で 70%、食品小売業で 55%、外食産業で 50%を達成するよう目標が設定された。しかし、現状では食品卸売業、食品小売業、外食産業における食品循環資源の再生利用率は 25-58%と低く（農林水産省公表、平成 25 年度実績）、その利用率の向上が推奨されている。本研究で得られた食品残渣（生ゴミ）と水草の共消化メタン発酵消化液を用いた微細藻類培養実証実験の成果は、食品リサイクルの推進へも貢献できる。

これらの成果は、中央環境審議会が「環境研究・環境技術開発の推進戦略について」の答申で示した中長期的に目指す社会像を具現化する技術となる。また、滋賀県が掲げる「マザーレイク 21 計画」における、「効果的な水草の除去および繁茂抑制方法の検討」に貢献することができる。

微細藻類の生産は、大気中から二酸化炭素を吸収するため、消化液による微細藻類培養はカーボンオフセットに寄与し、温暖化抑制策に貢献することができる。

6. 国際共同研究等の状況

近年、微細藻類の大量培養による汚水や汚泥廃棄物の処理に関する研究は世界的に注目されている。欧米では、微細藻類の大量培養を用いた汚水処理の事業化、環境保全や持続可能な社会の構築を目指した技術開発が盛んに行なわれている。特に、スペインのバジャドリド大学の研究チームは、廃棄物や生物資源の再利用に関するバイオ技術について、多くの研究業績を有している。我々は、彼らと連携し、微細藻類の大量培養による水処理技術の最先端に関する国際交流を行った。我々は、平成26年と27年に、バイオ技術分野において豊富な研究経験を持つバジャドリド大学の教授3名を招待し、研究発表会、および微細藻類による汚水処理技術について意見交換を行った。平成27年には、本研究プロジェクト関係者が、先方を訪問し、研究発表および施設の見学を行った。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

特に記載すべき事項はない。

<査読付論文に準ずる成果発表>

山田剛史：滋賀県立大学環境科学部 卒業論文（2015）

「水草のメタン発酵消化液から微細藻類を用いて栄養塩を効率的に除去する方法の検討」

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 伴修平、戸田龍樹、石川可奈子、高津文人：環境技術、45（9）、478-483（2016）

「水草バイオマスの持続的利用を通じた里湖循環型社会の可能性」

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) H. Takee, S. Kimura-Sakai, S. Ban, M. Koyama and T. Toda: The 16th international symposium on river and lake environments, Chuncheon, Korea (2014)
“Algal growth characteristic in anaerobic digestion effluent of aquatic weeds”
- 2) S. Kimura-Sakai, H. Takee, S. Ban, M. Koyama and T. Toda: 2015 ASLO Aquatic Science Meeting, Granada, Spain (2015)
“Anaerobic digestion of submerged macrophytes: biomethane potential, pre-treatment and the drawback”
- 3) 木村成子、山田剛史、竹江紘世、伴修平、小山光彦、戸田龍樹：第49回水環境学会年会（2015）
「水草を原料としたメタン発酵消化液から微細藻類を用いて栄養塩を効率的に除去する条件の検討」
- 4) 木村成子、山田剛史、伴修平、小山光彦、戸田龍樹、石川可奈子：第80回日本陸水学会（2015）
「緑藻*Chlorella sorokiniana*を用いて水草を原料としたメタン発酵消化液から効率的に栄養塩を除去する条件の検討」
- 5) 木村成子、山田剛史、伴修平、小山光彦、渡邊啓子、戸田龍樹、石川可奈子：第50回日本水環境学会年会（2016）
「水草を原料としたメタン発酵消化液から緑藻*Chlorella sorokiniana*を用いて効率的に栄養塩を除去する条件の検討」
- 6) Toda, T. and S. Ban: XII International Congress of Scientific Research (2016)
“Novel lake ecosystem management by sustainable harvesting and effective utilization of aquatic weed biomass”
- 7) S. Ban, T. Toda, K. Ishikawa, A. Imai: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Novel lake ecosystem management by sustainable harvesting and effective utilization of aquatic macrophytes biomass; overview for the concept of our on-going project”
- 8) S. Kimura, S. Ban: 33rd SIL Congress (SIL2016), Torino, Italy, 2016
“Effective nutrient removal from anaerobic digestion effluents of aquatic macrophytes”

using the green alga *Chlorella sorokiniana*”

- 9) 刘鑫、伴修平、藤原正明、戸田龍樹：第51回日本水環境学会（2017）
「水草を用いた嫌気発酵液分残渣による微細藻類連続培養：Mg添加とpH調整」
- 10) 木村成子、山田剛史、刘鑫、伴修平、小山光彦、戸田龍樹：第51回日本水環境学会（2017）
「メタン発酵消化液へのMg添加による微細藻類の増殖促進および栄養塩除去率の向上」

（3）知的財産権

- 1) 伴修平、木村成子、戸田龍樹、秋月真一、小山光彦：「水草のメタン発酵消化液を用いる微細藻類の培養方法」、特願2016-200156、平成28年10月11日

（4）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 一般公開シンポジウム「琵琶湖の水草フォーラム」（主催：滋賀県、2015年6月27日、コラボしが21大会議室、参加者105名）にて講演「演題：湖沼環境保全と水草バイオマスの有効利用」
- 2) びわ湖水草活用フォーラム～水草からメタン発酵～（主催：滋賀県環境保全協会、2015年9月14日、大津、参加者30名）にて講演「演題：水草バイオマスの持続可能な収穫と利活用による湖沼生態系保全技術の確立」
- 3) 平成27年度滋賀県立大学新シーズ発表会（主催：滋賀県立大学、2015年11月27日、草津、参加者41名）にて講演「演題：水草バイオマスの持続可能な収穫と利活用による湖沼生態系保全技術の確立」
- 4) 草津エコフォーラム2016（主催：草津市、2016年8月31日、草津、参加者130名）にて講演「演題：水草の持続的利活用に関する技術開発～メタン発酵と微細藻類培養～」
- 5) シリーズ公開講演会第8回「琵琶湖研究の最先端にふれる」（主催：京大大学生態学研究センター、2017年2月19日、キャンパスプラザ京都 第2講義室、聴講者100名程度）にて講演「演題：水草の持続的利用による現代版里湖循環型社会の可能性」

（5）マスコミ等への公表・報道等

- 1) 京都新聞（2016年1月13日、朝刊1頁、「琵琶湖の水草で発電 滋賀県立大、バイオガス構想」）
- 2) 成果の記者発表（2016年7月27日、於滋賀県立大学、「水草バイオマスの持続可能な収穫と利活用による湖沼生態系保全技術の確立 - 水草バイオマスからバイオガス生産とクロレラ培養 -」）
- 3) びわ湖放送 スポットニュース（2016年7月27日、記者発表の様子を紹介）
- 4) 京都新聞（2016年7月28日、24頁、「琵琶湖の厄介者から発電 水草廃液でクロレラ培養」）
- 5) 中日新聞（2016年7月29日、16頁、「過剰な水草資源に活用」）
- 6) 読売新聞（2016年7月30日、33頁、「水草の廃液でクロレラ」）
- 7) 滋賀彦根新聞（2016年7月30日、2頁、「水草発酵しクロレラ精製」）
- 8) NHKラジオ第1「NHKジャーナル、琵琶湖の夏の厄介者とのさらなる戦い」（2016年9月1日午後10時から5分程度、プロジェクトの取り組みについて紹介）
- 9) 朝日新聞（2016年9月8日、滋賀版、29頁、「『湖の厄介者』水草活用」）

(6) その他

特に記載する事項はない。

8. 引用文献

- 1) T. Ichimura: Proc. of the 7th Int. Seaweed Symp., Univ. of Tokyo Press, 208-214 (1971)
Sexual cell division and conjugation-papilla formation in sexual reproduction
of *Closterium strigosum*
- 2) A.M. Lakaniemi, O. H. Tuovinen & J. A. Puhakka: Bioresour. Technol., 135, 222-231
(2013)
Anaerobic Conversion of Microalgal Biomass to Sustainable Energy Carriers-A Review
- 3) L. Provasoli & I. J. Pintner: The Ecology of Algae. Spec. Pub., 2, 84-96 (1959)
Artificial media for fresh-water **algae**: problems and suggestions

Novel Lake Ecosystem Management by Sustainable Harvesting and Effective Utilization of Aquatic Weed Biomass

Principal Investigator: Syuhei BAN

Institution: The University of Shiga Prefecture
2500 Hassaka, Hikone-City, Shiga 522-0388, JAPAN
Tel: +81-749-28-8307 / Fax: +81-749-28-8463
E-mail: ban@ses.usp.ac.jp

Cooperated by: National Institute of Environment, Soka University, Lake Biwa Environmental Research Institute

[Abstract]

Key Words: Submerged macrophytes, Sustainable utilization, Lake ecosystem conservation, Biodiversity, Methane fermentation, Anaerobic digestion effluent, Mass culture of microalgae, Lake Biwa

There are a lot of problems related to overgrowing aquatic weeds in lakes and rivers throughout the world. Historically, aquatic weeds were harvested for fertilization in agriculture. But they are no longer used now, because chemical fertilizers are better in growth, easier and cheaper in use than the weeds are done as a fertilizer. To develop effective utilization of aquatic weeds is therefore the most important for resolving this issue. On the other hand, sustainably harvesting the weeds is also important for management in aquatic ecosystems, because the weeds play a key role in an aquatic ecosystem as nursery ground and refuges for other small organisms living in littoral area. Aims of this study are, therefore, 1) to evaluate the weeds (submerged macrophytes) abundance and 2) harvesting methods for a sustainable management, 3) to develop procedures for effective treatment of the macrophyte biomass with an anaerobic digestion (AD), and finally 4) for effective removal of nutrients from anaerobic digestion effluents (ADEs) using micro-algae. In the results, 1) production of submerged macrophytes in south basin of Lake Biwa estimated were 2,100 tons dry-wt/month from May to September. Growth curve in each year fitted to a logistic model can predict the potential growth in the following seasons using water temperature, secchi depth and phosphate concentration in May. Species diversity of animals attached to the macrophytes and dissolve oxygen concentration just above the bottom were good indicators for evaluating appropriate amount of the macrophytes to keep an healthy lake ecosystem, providing the values of 30-60% as macrophytes infestation rates throughout a water column. 2) Harvesting macrophytes using a dredge-like scooper (Man-gan) may negatively influence

on water quality in short-term, while positively in long-term through less sedimentation of macrophyte biomass due to preventing elution of nutrients and heavy metals from the bottom sediments. 3) Alkaline thermochemical pre-treatment was effective for AD of lignin-rich macrophytes, which dominated in the lake. In a bench-scale semi-continuous AD of the macrophytes, methane conversion efficiencies were higher than 60%, which was our target value. 4) Mass-culture of micro-algae *Chlorella sorokiniana* effectively eliminated major nutrients from the ADEs. Ten-fold dilution of the ADEs provided the best result for algal growth, and Mg enrichment was essential for the potential yield of the algal growth and for the highest nutrient removal efficiency. These procedures using AD and micro-algal culture proposed in this study will be helpful for conservation of lake ecosystem through sustainable utilization of aquatic weeds.