

(13) ホテイアオイの成長速度と栄養塩吸収特性に関する解析

——とくに窒素について——

ANALYSIS ON GROWTH RATE AND NITROGEN UPTAKE CHARACTERISTICS
OF WATER HYACINTH

○今 岡 務* 寺 西 靖 治*
Tsutomu IMAOKA*, Seiji TERANISHI*

ABSTRACT; Water quality purification using water hyacinth, *Eichhornia Crassipes* (Mart.) Solms, has attracted from the point of view of energy cost on wastewater treatment systems. Water hyacinth, however, is originally a subtropical flora. Therefore it is necessary to investigate the applicability on temperate climate as Japan. The purpose of this study is to investigate the characteristics of nitrogen uptake and growth of water hyacinth on the temperate climate conditions. Rates of nitrogen uptake and growth were measured in cultures of water hyacinth growing outdoors in continuously flowing nutrient solutions. Either NH_4Cl or NaNO_3 was added as the resource of nitrogen in nutrient solutions. Maximum growth rate constant $k_{\max}$ was expressed as an exponential function of air temperature, $k_{\max} = a[e^{b(T-10)} - 1.0](1/\text{hr})$. This model is a nonlinear function, because experimental results were analyzed using a nonlinear parameter estimation program that employs the method of Gauss-Newton least-squares. As the results $a=0.00623$ and $b=0.0326$ were obtained. An empirical model of nitrogen uptake rate of water hyacinth was simulated by the Michaelis-Menten equation with $V_{\max}$, the maximum specific rate of nitrogen uptake. The total nitrogen uptake rate was calculated by a mass balance equation with nitrogen in each culture. Half-saturation constants were estimated to be 0.650 mg-N/l in the case of NH_4Cl as nitrogen resource and 0.893 mg-N/l for NaNO_3 . On the other hand, the yield coefficient of water hyacinth was $0.0279 \text{ mg-DW/mg-N}$ when NH_4Cl was used as the nitrogen resource.

KEYWORDS; eutrofication, water hyacinth, nitrogen uptake, growth rate.

1. はじめに

水域の富栄養化に対する制御法として種々の方法が検討されているが、ホテイアオイおよびウキクサなどの水生植物を用いた水質浄化法もそのひとつである。とくに、ホテイアオイ (*Eichhornia crassipes* (Mart.) solms) は繁殖力が強く、かつ、バイオマスの回収が容易であることに加えて、バイオマスエネルギー源として利用できることなどにより、水処理システムのエネルギーコスト的な観点からも注目されている。しかしながら、ホテイアオイは元来、亜熱帯性の水生植物であるため、わが国のような温帯性の気候のもとでどの程度水処理システムあるいは水域の浄化法としての適用が可能であるかについてはほとんど検討がなされていない。とくに、わが国の春季および秋季のような気候のもとでの成長速度と栄養塩吸収能力については不明な部分が多く残されている。

本研究では、一定量の培地を連続的に供給する栽培実験を実施し、ホテイアオイの成長速度および窒素吸収速度に対する気温ならびに窒素濃度の影響について検討を加えた。また、これらの因子の影響を考慮したホテイアオイの成長速度式および窒素吸収速度式の定式化を試みた。

2. 実験方法

2.1 実験の概要

各実験の概略を表-1に示す。ホテイアオイの栽培はRun 1~7ではビニールハウス内で水温をコントロ

* 広島大学 Hiroshima University

ールした硬質塩化ビニール製カラム（内径25 cm、高さ55 cm、培地容量25 ℓ）を用いて行い、Run 8～18ではアクリル板の屋根の下へポリプロピレン製のコンテナ（内寸46 cm×30 cm、深さ26 cm、培地容量31ℓ）を設置し栽培を実施した。供給培地の流量の調節はRun 1～7ではタイマーを用いて電磁弁の開閉時間を調節することにより行い、Run 8～18では定量ポンプを用いて行った。また、培地供給タンクのヘッドは適時培地を加えることにより、一日当りの流量に影響を与えないようにした。図－1はRun 1～7で用いた温室内の実験装置の概略図であるが、藻類の増殖を防止するため、培地供給タンクおよびホテイアオイ以外のカラム内水面は黒色ビニールシートで覆い、培地供給チューブなども黒色のものを用いた。Run 8～18を実施する場合にも同様にして行った。

供給培地としては、表－2に示した基礎培地に NH_4Cl あるいは NaNO_3 を窒素源として一定量添加したものを用いた。また、ホテイアオイの初期投入量は湿潤重量で約60～100gとなるようにそれぞれ調節した。なお、水温はRun 1～4では30℃に、Run 5～7では20℃にそれぞれクーリットを用いてコントロールした。Run 8～18では水温を調節せず、自然状態で実験を実施した。

Table 2 Composition of
basic medium

KCl	39.9	mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	123.3	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	57.7	
FeCl_3	1.0	
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.0	
K_2HPO_4	112.3	
Tap water	1000	ml

2.2 測定項目および分析方法

実験期間中、ホテイアオイの成長量ならびに流出窒素濃度、気温、水温などの測定を行った。ホテイアオイの成長量は2～7日に1度、よく水分をふき取った後、湿潤重量を測定し、別に求めた次の換算式により乾燥重量で表わした。

$$\text{DW} = 0.0432 \times \text{FW} - 0.241 \quad (1)$$

ここで、DW：ホテイアオイ乾重（g） FW：ホテイアオイ湿重（g）

流出窒素濃度は毎日10時に採水した流出水のアンモニア性窒素、硝酸性窒素および亜硝酸性窒素を分析し、全無機性窒素濃度で示した。これらの分析は下水試験法に基づいて行った。

2.3 日平均気温の算出方法

Run 1～7では10時および22時の温室内の気温を測定し、Run 8～18では10時の気温および最高、

Table 1 Experimental condition

Exp.No.	Experimental period	Nitrogen resource	Input * (mg-N/l)	Flow rate (liter/hr)
Run 1		NH_4Cl	2.26	0.167
2	1981	"	2.26	0.333
3	10/2~10/28	"	9.71	0.167
4		"	9.71	0.333
Run 5		NH_4Cl	2.46	0.167
6	1981	"	10.70	0.167
7	11/7~12/7	"	20.70	0.167
Run 8		NH_4Cl	2.574	0.184
9	1982	"	6.015	0.180
10	8/3~8/21	"	20.656	0.168
Run 11		NH_4Cl	10.243	0.216
12	9/9~10/15	"	48.493	0.218
Run 13		no addition	0.450	0.203
14		NaNO_3	3.972	0.217
15	1982	"	8.03	0.211
16	9/9~10/15	"	11.66	0.218
17		"	19.268	0.215
18		"	50.070	0.218

* Concentrations of N include inorganic nitrogen originally present in tap water medium container

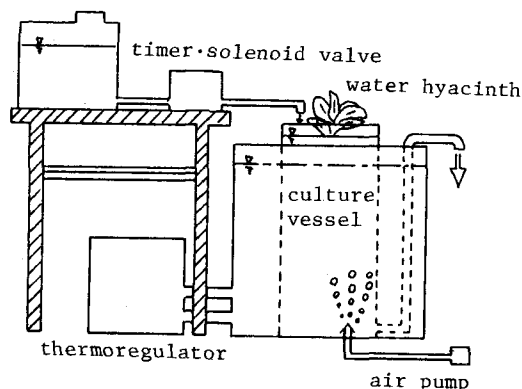


Fig.1 The equipment used for the experiments, Run 1～7

最低気温の測定を行ったが、気温の影響を検討する場合には以下の方法で算出した日平均気温を用いた。⁽¹⁾

すなわち、気温 T が日出から日没まで N 時間、サインカーブ $a \times \sin t + b$ にしたがって変動し日出時 ($t = -\pi/2$) に最低気温 $T_{\min}$ 、日没時 ($t = \pi$) に $(T_{\max} + T_{\min})/2$ となり、夜間には T が日出時の最低気温まで直線的に下降すると仮定すると、日中および夜間の平均気温 T_D 、 T_N はそれぞれ、

$$T_D = \frac{1}{N} \int_0^N T dt$$

$$= (T_{\max} + T_{\min})/2 + (T_{\max} - T_{\min})/3$$

$$T_N = \{(T_{\max} + T_{\min})/2 + T_{\min}\}/2$$

$$= (T_{\max} + 3T_{\min})/4$$

で表わされる。したがって、日平均気温 T_M は

$$T_M = \{NT_D + (24 - N)T_N\}/24$$

$$= 0.25(T_{\max} + 3T_{\min})$$

$$+ 0.0148N(T_{\max} - T_{\min}) \quad (2)$$

で求められる。Run 1~7では24時間計測の結果、10時および22時の気温 T_{10} 、 T_{22} に関しては、 $T_{10} = 0.8T_{\max}$ 、 $T_{\min} = 0.8T_{22}$ が成り立つことが確かめられたので $T_{\max} = 1.25T_{10}$ 、 $T_{\min} = 0.8T_{22}$ として T_M を算出した。

3. 実験結果と考察

3.1 ホテイアオイの成長速度に関する解析

ホテイアオイの成長は、栄養塩濃度、気温、日射量などの条件に影響を受けると考えられる。とくに、長期間の成長を検討する場合には、単なる増加率では種々の要因の影響を考慮することは困難である。

一般に、生物の成長を表わす式としては次式が用いられる。

$$\frac{dWt}{dt} = kWt \quad (Wt: \text{時間 } t \text{ における生物量}) \quad (3)$$

k は成長速度係数 ($1/\text{hr}$) であり、上式から導かれる次式により算出することができる。

$$k = (\ln(Wt)_2 - \ln(Wt)_1) / (t_2 - t_1) \quad (4)$$

$(Wt)_1$: 時間 t_1 における生物量 (g-DW)

$(Wt)_2$: 時間 t_2 における生物量 (g-DW)

また、窒素濃度の影響を考慮した式として Monod の式

$$k = k_{\max} \frac{N}{k_N + N} \quad (5)$$

を用いれば、生物量の変化は次式で表わされる。

$$\frac{dWt}{dt} = k_{\max} \frac{N}{k_N + N} Wt \quad (6)$$

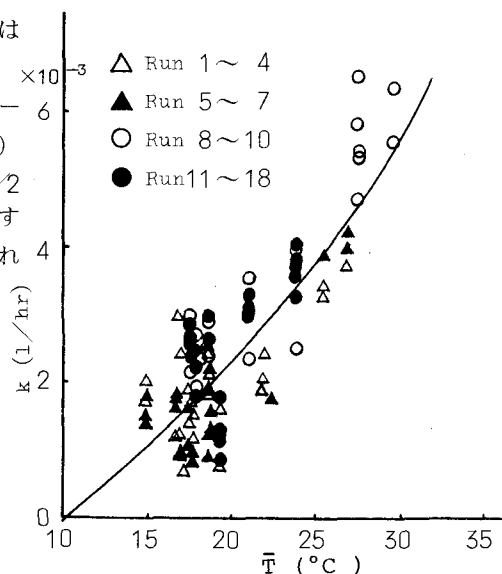


Fig.2 Relation between growth rate constant(k) and mean air temperature(T)

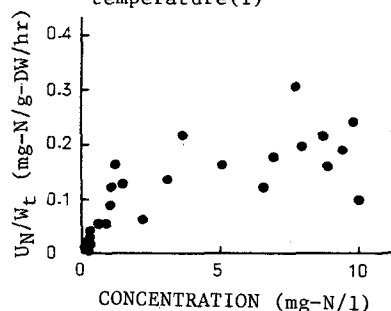


Fig.3 Relation between U_N/W_t (observed) and nitrogen concentration of output solutions. (In the case of NH_4Cl as nitrogen resource)

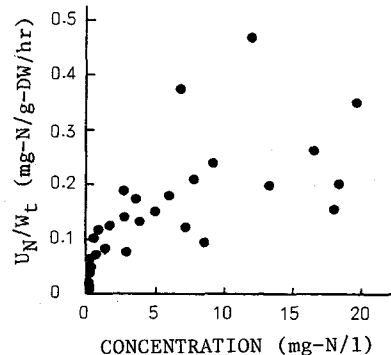


Fig.4 Relation between U_N/W_t (observed) and nitrogen concentration of output solutions. (In the case of NaNO_3 as nitrogen resource)

ここで、 $k_{\max}$ ：最大成長速度係数 ($1/\text{hr}$)、 N ：窒素濃度 ($\text{mg-N}/\ell$)、 k_N ：窒素に対する飽和定数 ($\text{mg-N}/\ell$) である。しかしながら、今回の実験結果を直接検討した場合、 k と N の間にくに傾向は認められず、(5)式に関する解析は困難であった。これは、ホテイアオイが元来、亜熱帯性の植物であり、その成長が温度の影響を受けやすいことによるものと推測された。すなわち、これまでの研究によれば、ホテイアオイは 10°C 以下ではほとんど成長せず、有意な成長が認められるのは 15°C 以上となつてからであることが報告されており、成長のための最適気温も 28°C 前後とかなり高いところにあることが知られている⁽²⁾⁽³⁾。しかしながら、実験期間中の日平均気温から求めた期間内平均気温は Run 1~4 で 23.6°C ($19.3\sim 26.8^\circ\text{C}$)、Run 5~7 で 17.4°C ($14.9\sim 21.7^\circ\text{C}$)、Run 8~10 で 27.9°C ($25.7\sim 31.1^\circ\text{C}$)、Run 11~18 で 19.5°C ($14.2\sim 24.7^\circ\text{C}$) であり、Run 8~10 以外は最適温度よりもかなり低い気温における実験であったため多くの場合ホテイアオイの成長は窒素濃度よりも気温に制限されたと考えられる。

図-2は流出窒素濃度が $2\text{mg-N}/\ell$ 以上の期間内で測定されたホテイアオイの成長量をもとに、(4)式から算出した k と成長量の測定期間中の日平均気温の平均値 ($\bar{T}$) をプロットしたものであり、ほぼ気温の上昇とともに指数的に大きくなる傾向が認められた。

したがって、この気温 ($\bar{T}$) の影響を $\bar{T} = 10^\circ\text{C}$ で成長速度がゼロとなる次のような関数で表わした。

$$k_{\max} = a \{ e^{b(\bar{T}-10)} - 1.0 \} \quad (7)$$

図-2には、厳密には $k_N \ll N$ と言えないデータも含まれているが、 $N = 2\text{mg-N}/\ell$ 以上の場合、その影響は少ないと考え、 $k \doteq k_{\max}$ として解析を行った。(7)式は非線形であるため、解析方法としてここでは Gauss-Newton 法の非線形回帰分析を用いた。その結果、(7)式の定数 a 、 b として $a = 0.00623 \pm 0.00026$ 、 $b = 0.0326 \pm 0.0010$ が得られた。すなわち、

$$k_{\max} = 0.00623 \{ e^{0.0326(\bar{T}-10)} - 1.0 \} \quad (1/\text{hr}) \quad (8)$$

図-2の実線は(8)式を示すが、 $\bar{T} = 20\sim 25^\circ\text{C}$ における最大成長速度は、 $k_{\max} = 0.058\sim 0.094$ ($1/\text{day}$)となる。これは青山らが児島湖などでホテイアオイを栽培し測定した8~10月の成長係数とはほぼ等しいものであった⁽⁴⁾。

3.2 窒素吸収速度式の検討

本実験を完全混合と考えた場合、窒素に関して次の収支式が成立する。

$$V \left(\frac{dN}{dt} \right) = FN_0 - FN - V \left(- \frac{dN}{dt} \right)_c \quad (9)$$

ここで、 F ：流量 (ℓ/hr)、 N 、 N_0 ：流入、流出窒素濃度 ($\text{mg-N}/\ell$)、 $\left(- \frac{dN}{dt} \right)_c$ ：窒素吸収速度 ($\text{mg-N}/\text{hr}$)、 V ：培地槽内培地容量 (ℓ)。

ホテイアオイによる窒素の吸収速度を U_N ($\text{mg-N}/\ell$) とすると、(9)式より

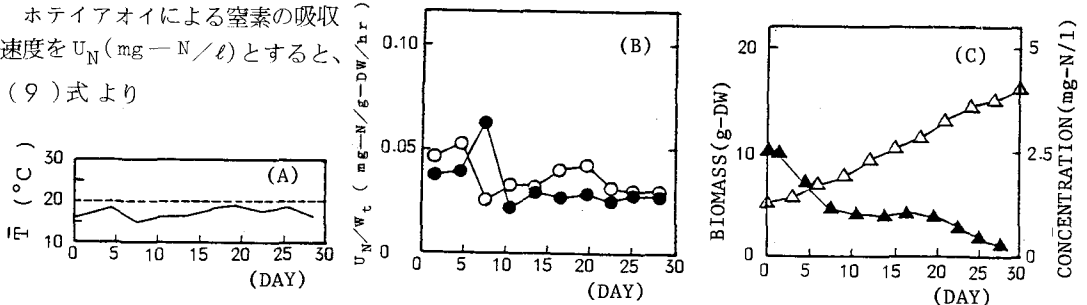


Fig.5 Experimental results on Run 5. (A): Change of mean air temperature (B): Fluctuation of observed (●●) and predicted (○—○) mass-specific uptake rates of nitrogen, U_N/W_t (C): Changes of nitrogen concentration (▲—▲) and biomass of water hyacinth (△—△)

$$U_N = V \left(\frac{dN}{dx} \right)_c = F(N_0 - N) - V \left(\frac{dN}{dt} \right) \quad (10)$$

また、窒素に対するホテイアオイの増殖収率を Y_N ($g-DW/mg-N$) とすれば、

$$U_N = \frac{1}{Y_N} \left(\frac{dWt}{dt} \right)_G \quad (11)$$

が成り立つ。したがって、ホテイアオイの窒素吸収速度が気温および窒素濃度に影響を受ける場合には (6) 式と (11) 式より、 U_N は

$$\begin{aligned} U_N &= \frac{1}{Y_N} k_{\max} \frac{N}{K_N + N} Wt \\ &= \frac{1}{Y_N} a \{ e^{b(T-10)} - 1.0 \} \frac{N}{K_N + N} Wt \end{aligned} \quad (12)$$

で表わされる。ここで、 $V_{\max} = k_{\max}/Y_N$ は最大吸収速度であり、定数の場合には $1/(U_N/Wt)$ と $1/N$ との Lineweaver-Burk プロットで決定される。しかしながら、本研究の場合 気温 T は一定ではないので (12) 式より $V_{\max}$ も変数となる。すなわち 本研究での k の解析結果を採用すれば、(8) 式より単位ホテイアオイ乾燥重量当りの窒素吸収速度は、次式のようになる。

$$\frac{U_N}{Wt} = \frac{0.00623}{Y_N} \{ e^{0.0326(T-10)} - 1.0 \} \frac{N}{K_N + N} \quad (mg-N/g-DW/hr) \quad (13)$$

一方、 U_N は (10) 式において

$$N = (N_m + N_{m+1}) / 2 \quad (mg-N/\ell) \quad (14)$$

$$V \left(\frac{dN}{dt} \right) = V(N_{m+1} - N_m) / 24 \quad (mg-N/hr) \quad (15)$$

として近似的に実測値を算出することができる。ここで、 N_m, N_{m+1} : m 日目および $(m+1)$ 日目の流出窒素濃度である。

また、 U_N に対応する Wt は、(6) 式で算出されたそれぞれの期間の k をもとに次式によって求めた。

$$Wt = (Wt)_1 e^{kA} \quad (16)$$

ここで、 A : $(Wt)_1$ から Wt までの時間 (hr)

以上のようにして、 U_N/Wt を算出し、対応する日の日平均気温および流出窒素濃度との関係を検討したが、データの変動が大きく解析が困難であった。そこで、成長速度係数 k を算出したホテイアオイの成長量測定期間を対象に U_N/Wt および流出窒素濃度の期間内平均値を算出し、検討を行った。

図-5～図-8中に Run 5, 10, 14, 16 の計算結果を経時的に示した。一方、図-3および図-4は、 NH_4Cl を窒素源とした Run 1～10ならびに $NaNO_3$ を窒素源とした Run 11～18 においてそれぞれ得られた U_N/Wt と流出窒素濃度との関係を示したものである。

全般的に、 $NaNO_3$ を窒素源とした場合の方が NH_4Cl を窒素源とした場合よりも U_N/Wt が高くなる傾向が認められた。硝酸性窒素の吸収に関する夏季のデータが得られていないので断定はできないが、図-5, 6中に示したように $NaNO_3$ を窒素源とした場合には、ホテイアオイの成長が一般的に悪かったにもかかわらず成長量に対して相対的に高い吸収量を示したことによると考えられる。

次に、(13) 式をもとに図-3, 4に示したデータを用いて U_N/Wt , 気温, 窒素濃度に関する非線形回帰分析を行い、 Y_N と K_N について検討した。その結果、 NH_4Cl を窒素源とした場合の増殖収率 Y_{NH} , 飽和定数 K_{NH} , また、 $NaNO_3$ を窒素源とした場合の増殖収率 Y_{NO} , 飽和定数 K_{NO} としてそれぞれ次の数値が得られた。

$$Y_{NH} = 0.0279 \quad (g-DW/mg-N) \quad K_{NH} = 0.650 \quad (mg-N/\ell) \quad (17)$$

$$Y_{NO} = 0.0117 \quad (g-DW/mg-N) \quad K_{NO} = 0.893 \quad (mg-N/\ell) \quad (18)$$

これより、 NH_4Cl を窒素源とした場合の吸収速度式として

$$U_{NH} = 0.223\{e^{0.0326(T-10)} - 1.0\}N / (0.650 + N)W_t \quad (\text{mg-N/hr}) \quad (19)$$

が得られ、 NaNO_3 を窒素源にした場合には

$$U_{NO} = 0.532\{e^{0.0326(T-10)} - 1.0\}N / (0.893 + N)W_t \quad (\text{mg-N/hr}) \quad (20)$$

が得られた。図-5～8に(19)式および(20)式による計算値を実測値と対応させて示した。

供給培地中の窒素濃度が低い場合ならびに窒素源として硝酸性窒素を用いた場合には、実測値とほぼ等しい数値が得られた。

しかしながら、高濃度の NH_4Cl を窒素源としたRun 10の場合には、夏季の急激な成長にともない U_N /

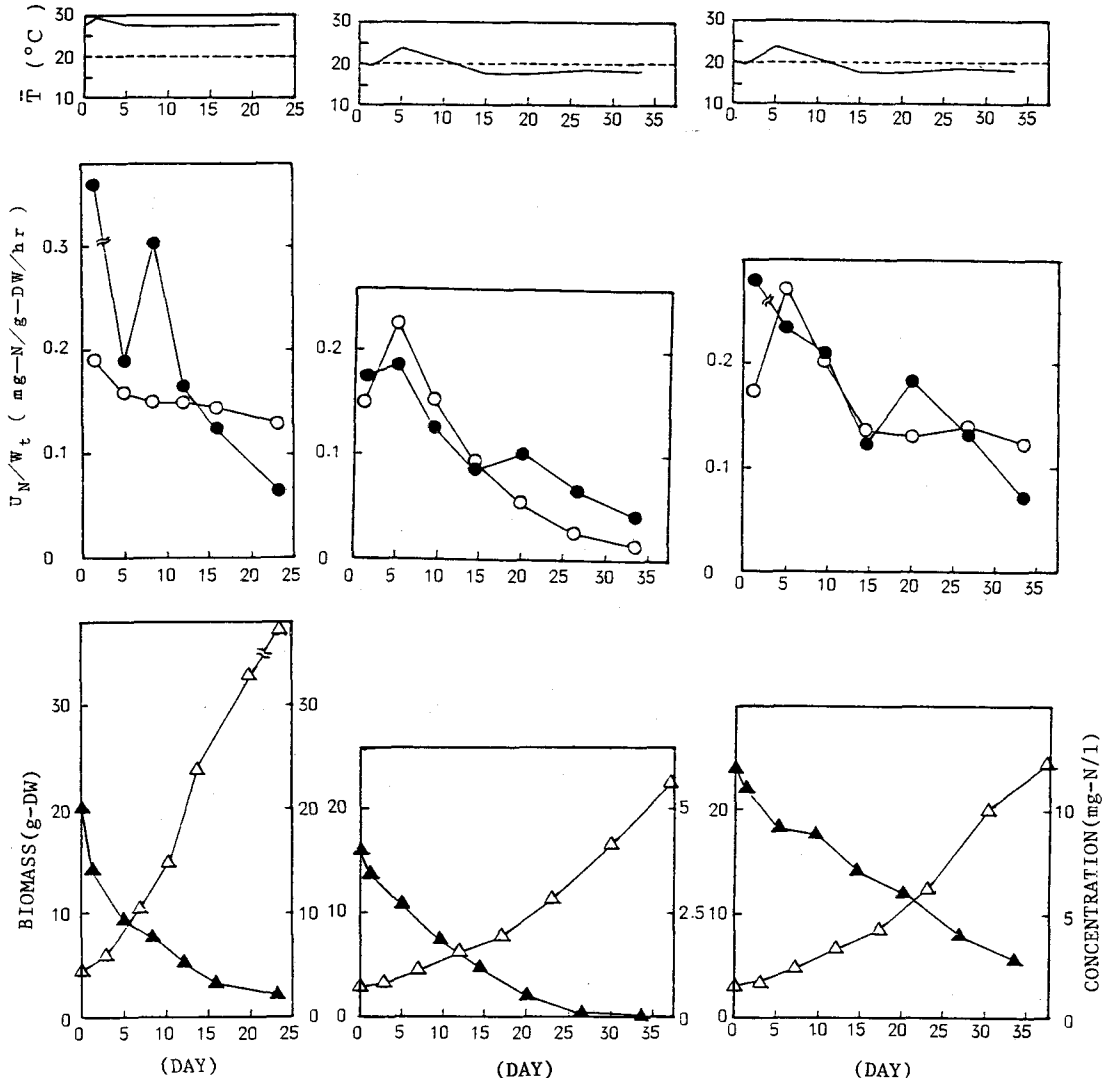


Fig.6 Run 10

Fig.7 Run 14

Fig.8 Run 16

Upper : Change of mean air temperature, Middle : Fluctuation of observed (●—●) and predicted (○—○) mass specific uptake rates of nitrogen, U_N/W_t . Lower : Changes of nitrogen concentration of output solutions (▲—▲) and biomass of water hyacinth (△—△)

Wt も大きく変動し、計算値はその平均的な数値を与えるにとどまった。

また、飽和定数については、 NH_4Cl を窒素源とした場合の方が低い値が得られ、ホテイアオイの窒素の親和性は NH_4Cl の方が高いと推測された。しかしながら、今回得られた $K_{\text{NH}} = 0.630$ という値は他の作物および藻類などと比較してそれほど親和性の良い結果を表わすものではなかった。⁽⁵⁾

一方、 $Y_{\text{NH}} = 0.0279 (\text{g-DW}/\text{mg-N})$ から窒素含有率を算出すると3.51% となり、これまでに報告されているホテイアオイの窒素含有率と比較しても妥当なものであった。しかしながら、 NaNO_3 を窒素源とした場合の $Y_{\text{NO}} = 0.0117$ からは8.55%とかなり高い窒素含有率が得られ、(20)式で表わされる窒素吸収速度式には検討の余地のあることを示した。

図-9はアンモニア性窒素を対象とした場合に、気温が15, 20, 25, 30°Cの時、(19)式から得られる U_{N}/Wt と窒素濃度の関係を図示したものである。

アンモニア性窒素濃度が $2\text{mg-N}/\ell$ の場合、ホテイアオイの被面積が100%の時の現存量が $10\text{kg-FW}/\text{m}^2$ とし、乾物率を5%とすると、20°Cおよび30°Cの時のホテイアオイによる窒素の吸収量は(19)式より、1日当りおよそ $0.8\text{g}/\text{m}^2$ 、 $1.9\text{g}/\text{m}^2$ と計算された。

4. おわりに

ホテイアオイを実際に水処理システムあるいは水域の浄化法として用いる場合には、処理あるいは除去が要求される負荷に対応できるだけのホテイアオイ量を確保しなければならない。四季を有するわが国においては自然状態での成長のみに依存することはできず、ある程度の初期投入量ならびに栽培準備期間が必要となるであろう。この初期投入量が浄化効果を左右する大きな要因となるため、春季および秋季などの自然条件によってホテイアオイの成長が制限される時期における解析がホテイアオイの水処理システム化には重要な課題となる。

このような観点から、 NH_4Cl あるいは NaNO_3 を窒素源とする培地を連続的に供給する栽培実験を実施し、ホテイアオイの成長速度および窒素吸収速度に関する検討を行い、次のような結果を得た。すなわち、栄養塩が十分に存在する場合、ホテイアオイの成長は気温に大きく影響され、解析の結果最大成長速度係数は指数関数で表わすことができた。また、 NaNO_3 を窒素源とした場合には検討の余地が残されたが、 NH_4Cl を窒素源とした場合には、Monod型の式に基づいたほぼ妥当な窒素吸収速度式が得られた。

最後に、実験協力者の中村一幸(現 徳山市役所)、谷山勝彦(現 広島市役所)の両氏に謝意を表するとともに、本研究が文部省科学研究費、奨励研究(A) № 57750494の補助を受けたものであることを付記する。

〈参 考 文 献〉

- 1) ミルソープ、ムーアビー：作物生理学，朝倉書店，p 252，1981
- 2) Walter J. O'Brien：Use of Aquatic Macrophytes for Wastewater Treatment, ASCE, Vol. 107 No. EE4, p681~697, 1981
- 3) 歌崎秀夫：ホテイアオイを用いた水質浄化，公害と対策，Vol. 17 No. 2, p110~114, 1981
- 4) 青山勲 他：自然水域における水質変動とホテイアオイ *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms の生長特性，農学研究，59, p125~139, 1981
- 5) James T. Morris：The Nitrogen Kinetics of *Spartina alterniflora* in Culture, Ecology, Vol. 61 No. 5, p1114~1121, 1980

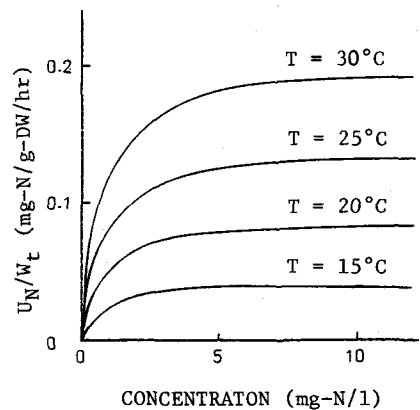


Fig.9 Mass-specific uptake rate of nitrogen (U_{N}/W_t) as function of nitrogen concentration, calculated by equation (19) with air temperature $T = 15, 20, 25, 30^\circ\text{C}$