

令和元年6月19日現在

機関番号：23201

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H02634

研究課題名(和文)世界遺産イシュケウルの物質サイクルを活用した持続可能な環境復元・管理技術の提案

研究課題名(英文) Proposal of sustainable environmental restoration and management technology using material cycle of World Heritage Ishkeul

研究代表者

畠 俊郎 (Hata, Toshiro)

富山県立大学・工学部・教授

研究者番号：30435424

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 24,200,000円

研究成果の概要(和文)：チュニジア国唯一の世界自然遺産であるイシュケウル湖では、水源地開発などに伴う環境悪化に伴い危機遺産リストに登録された歴史を持つ。このイシュケウル湖の環境改善に現地の物質サイクルを活用する新しい技術の提案・現地実証試験による有効性評価に取り組んだ。本研究課題の実施により、1)イシュケウル湖および流入河川には固化能力が期待される微生物が生息している、2)栄養塩類の濃度を工学的に制御することで目的とする微生物の優先化と固化の促進が期待できる、3)現場への適用アプリケーションとして溶液添加と造粒砂添加の2通りが選択できる、4)尿素の加水分解に伴う窒素の徐放効果も期待できる、ことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界自然遺産の環境修復においては、可能な限り現地の生態系を活用することが重要と考えられる。その意味において、原位置微生物を活用する本技術は一つの解決策として現地において注目されている。可能性評価から始まり、カラム試験、土槽試験、フィールド試験へと通じる一連の検討結果から、原位置微生物を用いることで底生生物の生育環境を維持しつつ表層堆積物の再懸濁を抑制する表層固化技術の有効性を明らかにするとともに、反応時に発生するアンモニア由来の窒素が水草の成長を促進する可能性があるなど物理的な改善にとどまらず水産資源の増産にも同技術が適用できる可能性を持つなど新たな展開を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Ichkeul Lake which located in northern Tunisia is a UNESCO World Heritage site. In this project, we proposed a lakebed sediment surface solidification with functional liquid or functional granular materials. These solidification methods focused on the enhancement of natural urease production, which can accelerate the calcite precipitation on the lakebed surface. The main outcomes of this project as follows, 1) Ishkeul Lake and inlet rivers sediment is inhabiting the specific microbes that can precipitate the calcite with urease enzyme reaction, 2) Engineering control of nutrient concentration etc. can enhance the number of microbes and urease activities with target species, 3) Field restration work can be carried out with two techniques such as addition of cementation solution with In-situ microbes or functional granular matial addition, 4) These proposed method can be expectate with the nitrogen source slow release effect that will be occer with lakebed surface solificiation.

研究分野：環境地盤工学

キーワード：世界自然遺産 バイオマニュピレーション 底質環境 微生物固化 機能性造粒物

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

チュニジア国唯一の世界自然遺産であるイシュケウル湖では、流入河川上流域に建設された貯水池（ダム）により、淡水および濁質の湖内への流入が抑制され、結果として湖底浸食や湖水の塩分濃度上昇などの環境悪化が進行する状態となった。これにより、渡り鳥の営巣地としての機能が低下して危機遺産リストへ登録された。その後チュニジア国が行った堰の設置やダムの放水方法の改善などの対策が認められこの危機遺産リストからは削除されたものの、世界自然遺産として指定された内容までの回復には至っておらず、水産業や周辺環境に配慮した形での更なる環境修復技術の開発および現地への適用が強く求められている。

本研究課題では、この環境悪化要因の一つとして流入河川由来の土砂量減少と、風波などによる固定表層堆積物の再懸濁に起因する湖外への土砂流出に着目した。

加えて、湖底浸食を現地の生態系を活用した形で抑制する技術として微生物が持つ結晶析出能力を工学的に促進させる微生物固化技術のイシュケウル湖への適用性について評価することとし、原位置の表層土壌中にすでに生息している微生物機能を活用することで湖底表層を底生生物の生育に悪影響を与えない範囲で固化し、風波などによる浸食抑制を通じて渡り鳥の営巣地としての機能回復を図る新しい環境復元技術の適用性を室内試験、現地実証試験により明らかにすることとした。

### 2. 研究の目的

本研究課題で対象としているイシュケウル湖は世界自然遺産であるとともに、近隣住民にとっては水産業を営む上でかけがえのない生活を支える漁場となっている。渡り鳥の減少理由の一つと考えられている湖内の塩分濃度上昇は、現地漁師へのヒアリングによると漁獲量の増加につながるなど水産資源の増加に寄与しているとの意見もある。

このような背景のもと、1) 現地 ADCP 観測等を通じた雨季・乾季における湖内表層土砂の動向を明らかにする、2) イシュケウル湖そのものおよび流入河川上流に建設された貯水池にて採泥を行い、本研究課題で着目している微生物機能による表層固化が期待できるかどうかを評価する、3) イシュケウル湖および流入河川中に目的とする微生物が生息している場合には、底泥表層の強度増進効果が期待される炭酸カルシウムの効率的な析出方法、4) 室内試験の結果から効果が期待される炭酸カルシウムの析出方法の現地実証試験による確認、について取り組むこととした。

以下、各項目に対する現状を以下に述べる。

#### (1) 現地 ADCP 観測等を通じた雨季・乾季における湖内表層土砂の動向

イシュケウル湖については危機遺産リストに登録されて以降各種対策が実施されるとともに、成果報告が行われている。しかしながら、体系だてて調査されている事例が無いためデータの整合性などを検証する必要がある。

#### (2) イシュケウル湖および流入河川上流の貯水池内における目的微生物の有無

近年、原位置微生物由来のウレアーゼ（尿素の加水分解酵素）に着目した微生物固化技術に関する研究が進められている。この微生物固化では高い酵素活性を持つ *Bacillus pasteurii* に着目した事例が多いが、部分的に原位置由来の単離微生物もしくは現地土壌の環境を整えることで目的とするウレアーゼ産出微生物を含めた集積培養系について検討を進めている事例が報告されている。一方、本研究課題で対象としているイシュケウル湖および流入河川に設置された貯水池由来の底泥については検討が進められておらず、目的とする微生物が「どの程度」、「どのような酵素活性を持って」存在しているかを明らかにする必要がある。

#### (3) 原位置由来の微生物の活性化に基づく効率的な結晶鉱物析出方法

微生物固化に関する先行研究の多くは純菌を用いた準開放系で行われている事例が多い。ここでの「準開放系」とは事前に準備した純菌由来の菌体培養液を添加し、その後は開放系で実験を継続することを示す。一方、今回開発した技術を現地に適用することを考えた場合、事前に目的とする微生物を高濃度に培養して添加することは対象となる湖の広さから考えても実現性が低いと推察される。このような背景の元、「どのように目的等する微生物を供給、優先化させるか」、「尿素の加水分解時に発生するアンモニアを環境負荷の小さい範囲でどのようにコントロールするか」について室内試験を通じて明らかにする必要がある。

#### (4) 現地実証試験による提案手法の有効性評価

(2)、(3) の検討結果からある程度原位置で微生物機能の活用による表層固化効果が期待できた場合に、提案手法により作成したサンプルを現地に設置して有効性を確認することとした。

なお、暴露試験体の設置に関しては事前に相手側の窓口である ANPE に計画を説明し、了解の上で実施する必要がある。

### 3. 研究の方法

以下、項目ごとに研究の方法について述べることとする。

#### (1) 現地 ADCP 観測等を通じた雨季・乾季における湖内表層土砂の動向

イシュケウル湖は非常に水深が浅いことと等を考慮し、現地に持ち込んだゴムボートを用いて ADCP 観測を行うこととした。観測時期は雨季および乾季とし、観測結果から土砂の移動について考察することとした。

#### (2) イシュケウル湖および流入河川上流の貯水池内における目的微生物の有無

原位置由来の土壌（底泥、表層堆積物などを含む）に目的とする微生物が生息しているかどうかの評価と、ECやpH、栄養塩類などの環境を整えることでどの程度の促進効果が期待されるかを明らかにすることを目的としたサンプリング、培養試験を実施することとした。

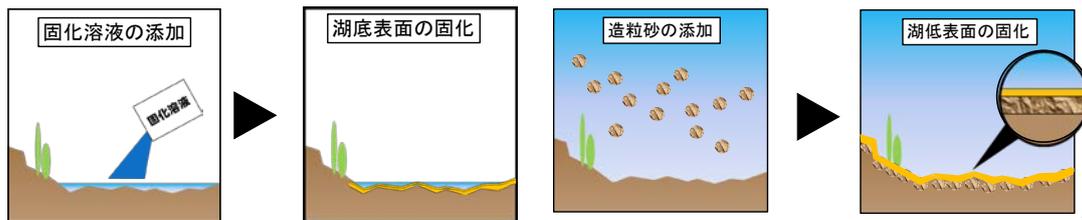
サンプリングは土壌物性用として表層部のみをハンドスコープにより採取したものと、微生物採取用としてアクリル円筒を表層に貫入する方法で行った。採取後のサンプルは低温環境で保存し、所定の手続きを経て日本に持ち帰り、微生物数のカウント、尿素分解活性を持つ微生物のスクリーニング、スクリーニングで得られた微生物を対象とした固化能力評価の順番で検討を進めた。

### (3) 原位置由来の微生物の活性化に基づく効率的な結晶鉱物析出方法

(2)の検討で目的とする微生物の存在および活性化手法が明らかとなったため、現場への適用方法について検討することとした。具体的には、a) 乾季を利用した溶液の散布による表層固化、b) 航路浚渫で発生する原位置由来の底泥を造粒化し、雨季・乾季を問わず造粒砂由来の固化成分供給による表層化、の2種類について適用性を検討することとした。

溶液添加、造粒砂添加それぞれの概要を図-1に示す。

(溶液添加法)



(造粒物添加法)

図-1 現地への適用を想定した施工方法

### (4) 現地実証試験による提案手法の有効性評価

(3)の検討結果から溶液添加、造粒砂添加それぞれについて有効性が期待できる結果となった。この成果をもとに現地チュニジアのANPE(Agence Nationale de Protection de l'Environnement)と協議の上、現地にて提案手法で作成した機能性造粒物の長期暴露試験を実施できることとなった。

設置場所としてイシュケウル湖中央部と、表層土砂の流出を想定しているビゼルト湾につながるTinja運河の2か所とした。なお、設置期間は半年間として水温、塩分濃度(電気伝導度)のロガーとあわせて湖底(運河底)から50cmの位置となるように設定した。

## 4. 研究成果

以下、検討項目ごとに主要な成果を記載する。

### (1) 現地 ADCP 観測等を通じた雨季・乾季における湖内表層土砂の動向

乾季および雨季を対象とし、イシュケウル湖とビゼルト湾をつなぐTinja運河周辺で行ったADCP観測の結果を図-2に示す。なお図中の黄色矢印は乾季、青色矢印は雨季をそれぞれ表している。来ない推移の低い乾季についてはTinja運河から湖に向かっての流れが確認された。この理由としては流入河川からの流入量が少なく湖面水位が低くビゼルト湾を通じて海水が供給されていることが考えられる。一方、雨季については河川を通じて供給される流入水がビゼルト湾に向かって流出している傾向が確認された。別途行った観測の結果から、乾季は雨季と比べて湖水の塩分濃度が高いが、濁度については乾季は低く雨季が高いとの結果が示されている。以上より、雨季に巻き上がった表層堆積物がTinja運河を通じてビゼルト湾に流出していることを間接的に裏付ける結果が得られた。

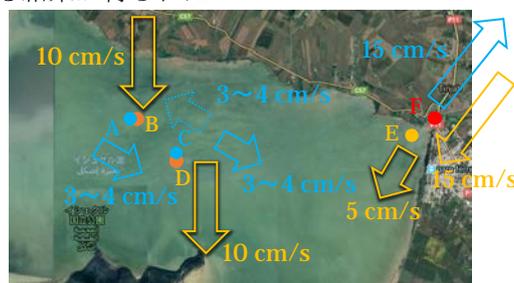


図-2 ADCP 観測結果

### (2) イシュケウル湖および流入河川上流の貯水池内における目的微生物の有無

原位置で採取後に持ち帰った土壌(底泥)サンプルを対象とした培養・表層固化実験を行った。集積培養では、尿素に酵母エキスを組み合わせた培地を用いることで1か月程度の培養で約10倍高い酵素活性値を示すことが明らかとなった。

この集積培養液を用いて浸透固化(底泥表面から深度方向に向かって固化成分が浸透する際に結晶化が進む効果を期待)試験を行い表層強度の増進効果の検証を行った。

φ5cm のカラム内に現地の底泥を投入し、その後同じ底泥由来の集積培養液に固化成分（尿素および塩化カルシウム）を添加した溶液を浸透させる条件で試験を行った。試験期間終了後に、表層部を対象としたベーンせん断試験により強度確認を行った。結果を図-3 に示す。

試験の結果より、菌体の添加を伴わない場合と比較して集積培養液を用いることで5倍程度強度を増進させる効果を確認することができた。

提案技術の基本的有効性（原位置にすでに目的としている微生物が生息していることと、この原位置微生物の機能を促進させることで表層強度の増進効果が期待できること）が明らかとなったため、現地への適用を想定した検討を進めることとした。



図-3 表層固化処理後の強度比較

### (3)原位置由来の微生物の活性化に基づく効率的な結晶鉱物析出方法

(2)で明らかとなった菌体活性化手法を用いて作成した菌体培養液を用いた溶液試験、造粒砂試験を実施した。溶液試験を用いた場合の試験結果（濁度および炭酸カルシウム析出量とベーンせん断強度）を図-4 に示す。

溶液試験の結果から、固化試薬を含む集積培養液を2回添加することで目標とする濁度50ppm以下までの改善効果が期待できることが明らかとなった。加えて、底泥内のベーンせん断強度は試験前後ともに誤解の生活可能範囲を維持しており、濁度抑制と底生生物の生活環境維持両面で効果が期待できる結果となった。

次に、造粒砂試験の結果について述べる。造粒砂試験では、試験前後の溶液中に含まれるカルシウムイオン濃度の測定を行い計算上ではあるが炭酸カルシウムの膜厚を求めることとした。あわせて、汽水域であるイシュケウル湖に加えて流入河川である Joumine 川貯水池の底泥についても試験を行うこととした。試験後の状況および計算上のカルサイト膜厚を図-5 に示す。

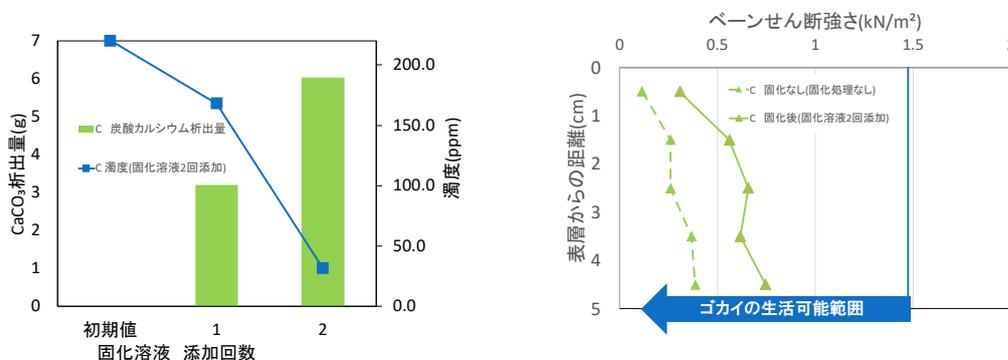


図-4 溶液試験前後の濁度、炭酸カルシウムおよびベーンせん断強度の鉛直分布

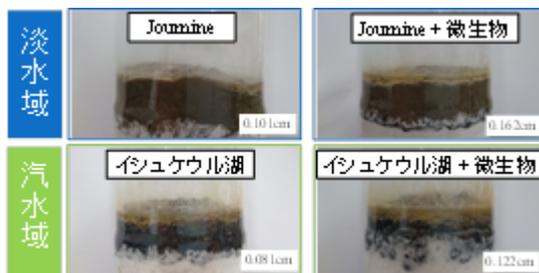


図-5 淡水域および汽水域を対象とした造粒砂添加試験結果

淡水域、汽水域ともに微生物を併用することで析出する炭酸カルシウム膜厚が増加する傾向が認められた。過去の検討から膜厚が0.1cm程度あれば濁度抑制効果が得られることが明らかとなっていることから、原地盤の環境を整えることですでに生息している機能を期待した機能性造粒砂を用いた場合においても、造粒砂作成時に集積培養液を混合した造粒砂と同様の効果が期待される。以上より、機能性造粒物を用いる場合には事前に微生物の培養などを行わなくても期待する効果が得られる可能性を明らかにすることができた。

#### (4) 現地実証試験による提案手法の有効性評価

湖内中央と Tinja 運河に計 3 本設置したカラムの内回収できたのは Tinja 運河の 1 本だけとなった。(温度、塩分濃度のロガーはすべて紛失となった。) 回収後のカラム表面は造粒砂の流出防止を目的として覆っていたジオテキスタイル前面に水草が繁茂する状況であった。この回収後のカラムおよび造粒砂に含まれる炭酸カルシウム量の測定結果を図-6 に、CHN コーダーを用いて測定した窒素量を図-7 にそれぞれ示す。

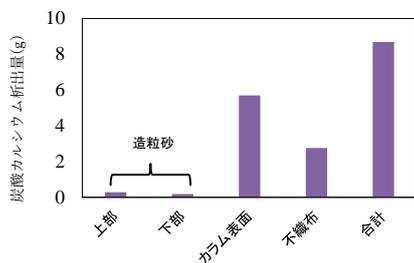


図-6 炭酸カルシウム析出量

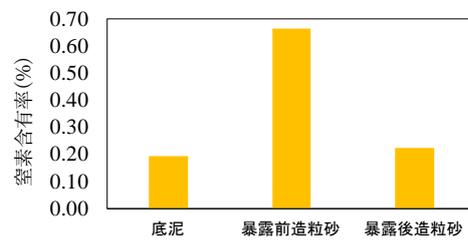


図-7 窒素量の比較結果

測定結果から、造粒砂中に添加した初期のカルシウム分の多くがカラム側に移行していることと、尿素的加水分解由来と考えられる窒素の現象が明らかとなった。

この窒素分がカラム周辺に徐放された効果により暴露試験後のカラムには水草が繁茂していたと考えている。

以上の(1)～(4)の検討を通じて得られた本研究課題の成果を以下にまとめる。

- イシュケウル湖の塩分濃度上昇・湖面低下には雨季および乾季で異なる湖水の流れが涵養している可能性がある。
  - イシュケウル湖および流入河川に設置された貯水池の底泥には尿素的加水分解活性を持ち炭酸カルシウムの析出を促進させる効果を持つ微生物がすでに生息している。
  - 原位置および原位置由来の微生物を用いることで湖底表面を生成生物が生息可能な範囲で固化し、表層堆積物の再懸濁を抑制する効果が期待される。
  - 現場への適用方法として乾季に溶液を添加する方法、雨季・乾季を問わず機能性造粒物として加工した底泥の添加が有効である。
  - 現地暴露試験の結果から、期待している炭酸カルシウムの析出促進とあわせて窒素の徐放による水草などの増産が期待される。
- ことが明らかとなった。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① 村田 湧水, 梶 俊郎, 鍵本 慎太郎, 松村 聡, 水谷 崇亮: 海底表層堆積物を対象とした酵素触媒法による底泥の巻き上がり抑制技術の適用性評価, 土木学会論文集 B3 (海洋開発), Vol. 74(2), pp. 270-275, [https://doi.org/10.2208/jscejoe.74.1\\_270](https://doi.org/10.2208/jscejoe.74.1_270), 2018 (査読有)
- ② 梶俊郎, 水谷崇亮, 渡部要一: 世界自然遺産イシュケウル湖の環境修復における微生物固化技術の適用性について, 土木学会論文集 B3 (海洋開発), Vol. 73(2), pp. 863-868, [https://doi.org/10.2208/jscejoe.73.1\\_863](https://doi.org/10.2208/jscejoe.73.1_863), 2017 (査読有)
- ③ Toshiro Hata, Mitsuteru Irie, Atsushi Kawachi, Taichi Tebakari: Evaluation of sediment solidification ability using in situ microbial functions in Ichkeul Lake, Tunisia, Euro Mediterranean Journal for Environmental Integration, Vol. 1, No. 1, pp. 1-8, <http://doi.org/10.1007/s41207-016-0003-82016> (査読有)
- ④ 梶俊郎, 入江光輝: チュニジア国 Joumine 貯水池底泥を対象としたイシュケウル湖の湖底環境復元技術の適用性評価, 土木学会論文集 G, Vol. 71, No. 4, pp. 125-133, 2015, <http://doi.org/10.2208/jscej.71.125> (査読有)

[学会発表] (計 11 件)

- ① Taichi Tebakari, Shojun Arai, Shigehiko Oda, Takashi Kitsuda, Yukihiro Sasakawa, Mitsuteru Irie and Toshiro HATA: Hydraulic observation of water and sediment using the ADCP in the Ichkeul Lake, Tunisia. TJS'water 2018 (国際学会)
- ② Toshiro Hata, Daisuke Suetsugu and Mitsuteru Irie: Development of an eco-friendly bio-based granular geomaterials for the environmental restration of Ichkeul Lake, Tunisia, TJS'water 2018 (国際学会)
- ③ Daisuke Suetsugu, Toshiro Hata and Mitsuteru Irie: In-situ characteristics of the lake bed of Lake Ichkeul, Tunisia TJS'water 2018 (国際学会)
- ④ Yoichi Watabe: Sedimentary stratigraphy of intertidal flats evaluated by seismic method, TJS'water 2018 (招待講演) (国際学会)

- ⑤ 澤田椿, 梶俊郎: 微生物機能を利用したセメント改良土の劣化抑制技術の検討, 平成 29 年度土木学会中部支部研究発表会 (2018)
- ⑥ 村田湧水, 梶俊郎: 大阪湾底泥を対象とした表層固化技術による巻きあがり抑制の検討, 平成 29 年度土木学会中部支部研究発表会 (2018)
- ⑦ 川崎稀文, 梶俊郎: チュニジア国イシュケウル湖における底泥の巻きあがり抑制に着目した微生物固化技術に関する検討, 第 7 回次世代地盤改良技術に関するワークショップ, 2017
- ⑧ Toshiro Hata, Kazuhiro Kaneda: New mitigation techniques for prevention of soil liquefaction by using microbial functions, 19th International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering (Seoul) (2017)
- ⑨ 川崎希文, 梶俊郎: 湖沼底泥の固化技術による巻きあがり抑制の検討, 平成 28 年度土木学会中部支部研究発表会 (2017)
- ⑩ Kawachi, M. Takahashi, M. Irie, H. Ouni, J. Tarhouni and T. Hata: Observation of sediment resuspension in Ichkeul Lake, Tunisia, Tunisia-Japan Symposium on Science, Society and Technology, TJASSST 2015
- ⑪ T. Hata, T. Takamatsu, M. Irie, A. Kawachi and T. Tebakari: Evaluation of the sediment solidification ability by using In-Situ microbial functions in Ichkeul Lake, Tunisia, Tunisia-Japan Symposium on Science, Society and Technology, TJASSST 2015

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<https://www.pu-toyama.ac.jp/EE/hatalab/index.htm>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名: 渡部要一

ローマ字氏名: Watabe Yoichi

所属研究機関名: 北海道大学

部局名: 工学研究院

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 00371758

研究分担者氏名: 末次大輔

ローマ字氏名: Daisuke Suetsugu

所属研究機関名: 佐賀大学

部局名: 理工学部

職名: 准教授

研究者番号 (8 桁): 30423619

研究分担者氏名: 入江光輝

ローマ字氏名: Irie Mitsuteru

所属研究機関名: 宮崎大学

部局名: 工学部

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 50451688

研究分担者氏名: 水谷崇亮

ローマ字氏名: Mizutani Takaaki

所属研究機関名: 国立研究開発法人海上・港湾・航空技術研究所・港湾空港技術研究所

部局名: 基礎工研究グループ

職名: グループ長

研究者番号 (8 桁): 70371763

研究分担者氏名: 手計太一

ローマ字氏名: Tebakari Taichi

所属研究機関名: 富山県立大学

部局名: 工学部

職名: 准教授

研究者番号 (8 桁): 70391620