

亜酸化窒素の水環境中動態に水質が与える影響に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 25

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：岡本誠一郎、北村友一、對馬育夫

【要旨】

河川や湖沼における N_2O の生成実態を解明するため、霞ヶ浦・印旛沼流域の一部および下水処理場放流水流入河川を対象に通年調査を行った。さらに、 N_2O の生成に及ぼす影響要因を解明するため、霞ヶ浦底泥と河川水、下水処理水を用いた回分式の N_2O 生成実験を行った。実態調査から集水域に家畜や畑地が多い河川では溶存 N_2O 濃度が著しく高いことを確認した。 N_2O 生成実験からは、 N_2O 生成には底泥が関与しており、 NO_3-N 濃度が高い条件ほど生成量が大きくなった。 NH_4-N 濃度が高い条件では生成しなかったことから、 N_2O の生成は硝化過程よりも脱窒過程で大きいことがわかった。また、脱窒反応の最初の 24 時間は N_2O の生成速度が高いが、蓄積した N_2O はその後還元されることがわかった。

キーワード：亜酸化窒素、河川・湖沼、実態調査、回分試験、硝化・脱窒反応

1. はじめに

温室効果ガスである亜酸化窒素 (N_2O) は、発生量そのものは地球全体から排出される全温室効果ガス量のうち、わずか 0.03% と小さいが、二酸化炭素の約 300 倍の温室効果能を有することから、温室効果係数を考慮した発生割合では、全体の 7.9% を占めると見積もられている (図 1)¹⁾。また、 N_2O は、紫外線により分解を受け、一酸化窒素を生成するため、成層圏におけるオゾン層破壊の一因にもなっている。このことから、地球温暖化防止のため人為的に発生する N_2O 発生量の削減が大きな課題となっている。発生する N_2O のうち、約 60% は自然植生土壌や海洋など自然由来から、残りは農業や河川・湖沼、下水処理場から発生していることが報告され²⁾ (図 2)、アンモニア性窒素 (NH_4-N) が亜硝酸性窒素 (NO_2-N) に酸化される過程 (硝化反応) および NO_2-N が N_2 ガスに還元される過程 (脱窒反応) で生成されることが既往の研究により明らかにされている (図 3 3-5)。しかし、各所における正確な N_2O 量の把握、詳細な発生メカニズム等、不明な点が多く、明確な対応策が講じられていない。したがって、本研究では、河川から発生する N_2O に着目し実態調査を行い、流域の土地利用や季節変動の観点から、河川における N_2O の挙動を解析した。また、水環境中からの N_2O の生成要因を解明するため、実験室において、下水処理水や底泥を用いた N_2O 生成実験を行った。

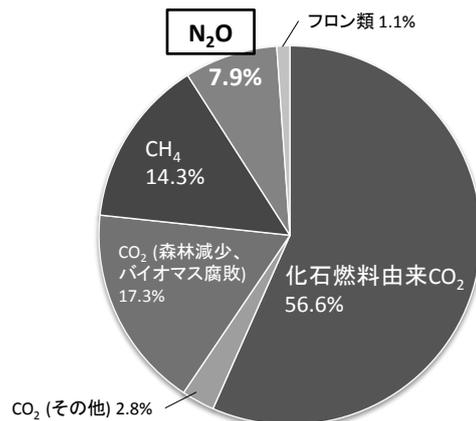


図 1 人為起源の温室効果ガスの総排出に占めるガスの種類別の割合 (CO_2 換算)

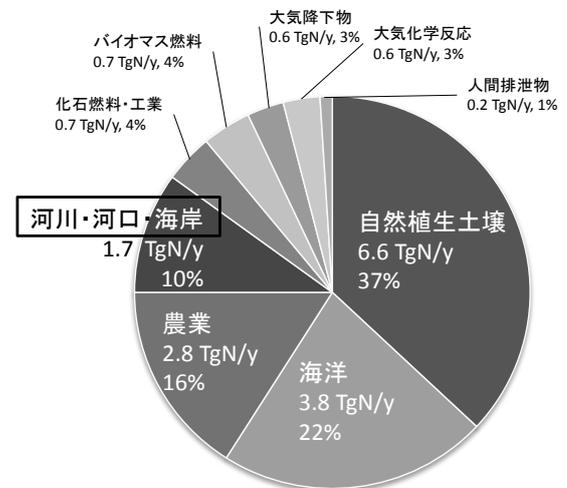


図 2 地球全体における N_2O 発生源の内訳

2. N₂O 実態調査

2.1 対象箇所および現場作業

実態調査は霞ヶ浦流域および印旛沼流域の一部、また A 市下水処理放流河川を対象に行った。対象箇所と調査時期を表 1 に示す。調査時、現地では DO、pH、水温、電気伝導度 (EC) および流量を測定するとともに、試料を水質分析用に 300 mL のガラス容器に採水し実験室へ持ち帰った。また、溶存 N₂O 測定用に、現地で容量 22 mL のバイアルに 10 mL 注ぎ入れ、微生物不活性化用ヒビテン液 (グルコン酸クロルヘキシジン 5% 含有、住友製薬) を 333 μL 添加し、ブチルゴムセプタムとアルミシールで密閉した。また、銚田川支流では、ガス態 N₂O 量測定のため、自作のガス捕集器 (図 4) を使い、水面にチャンバーを一定時間設置後、チャンバー内のガスをポンプで吸引した。

2.2 分析

表 1 は、HS-GC-MS の分析条件である。採取したガスおよび液体試料は、ヘッドスペース法 (温度 35°C、恒温時間 60 分) により、ガスクロマトグラフ-質量分析計 (SHIMADZU GCMS-QP2010) を用い、測定を行った。ガスクロマトグラフ-質量分析計では、導入部 150°C、インターフェイス温度 220°C およびイオン源温度 200°C、カラム温度を 35°C (3.5 分) → 40°C/分 → 200°C (2.4 分) に設定し、TC-BOND Q (内径 0.32mm、長さ 30m、膜厚 10 μm、GL サイエンス社) のカラムを用いた。キャリアガスは、高純度 He (99.9995%) を使用した。NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N、PO₄-P はオートアナライザー (Bran Luebbe、TRAACS2000) により測定した。

表 2 調査対象箇所

霞ヶ浦流域			印旛沼流域	A市
桜川	銚田川	北浦	高崎川	下水処理水 および 放流河川
2地点	4地点	3地点	8地点	6地点
2012年10月～2014年2月			2014年1月	2013年10月 および 2014年1月

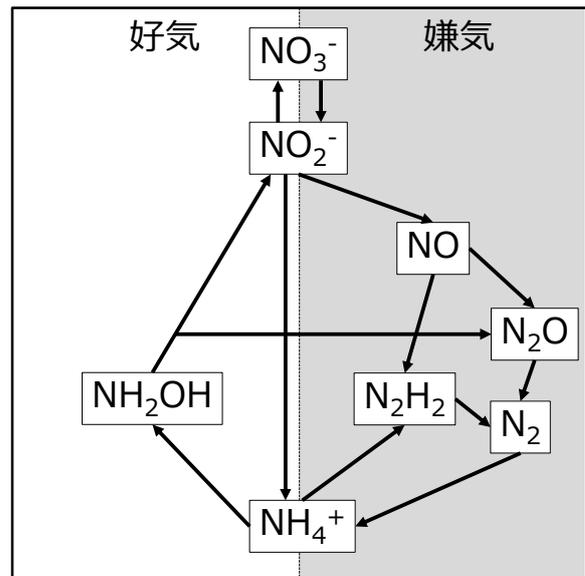


図 3 水中での主要な窒素代謝経路

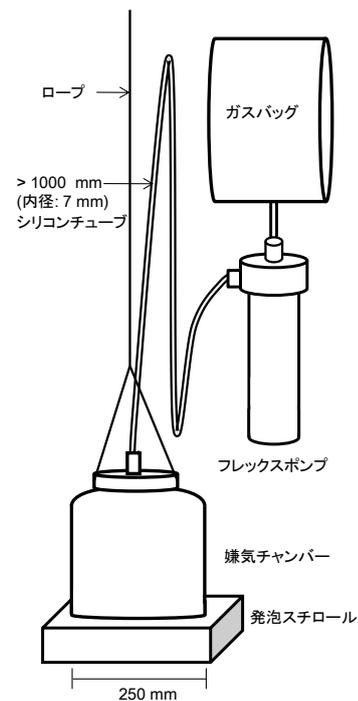


図 4 ガス捕集器

表 1 HS-GC-MS 分析条件

HS部 (使用機器: PerkinElmer TurboMatrix 40)		GC-MS部 (使用機器: GCMS-2010)	
カラムヘッド圧	: 40 kPa	使用カラム	: TC-BOND Q, 0.32mm × 30m, 10 μm
ヘッドスペースモード	: コンスタント	カラムオープン温度	: 35°C (3min) → 10°C/min → 150°C (5min)
HSバイアル保温温度	: 65°C	キャリアガス	: ヘリウム
HSバイアル保温時間	: 5 min	インターフェイス温度	: 220°C
HSバイアル加圧時間	: 0.3 min	イオン源温度	: 200°C
HSガス注入時間	: 0.05 min	イオン化法	: EI法
ニードル引き上げ時間	: 0.5 min	測定モード	: SIM
ニードル温度	: 150°C	測定イオン	: m/z 30
トランスファーライン温度	: 150°C	検出器電圧	: 1.5 kV
		エミッション電流	: 150 μA
		インターバル時間	: 0.50 sec

2.3 調査結果

2.3.1 霞ヶ浦流域および印旛沼流域における晴天時の溶存N₂O調査

図5に霞ヶ浦流域で行った溶存N₂O調査地点を、図6に調査結果を示す。対象とした地点は筑波山溪流である山口川（桜川上流）と合流先である桜川の下流、北浦3地点および北浦流入河川である銚田川4地点とである。

山口川のNO₃-N濃度は調査期間中0.74-1.36 mg-N/L（平均0.91 mg-N/L）と、渓流水の全国平均0.4 mg-N/L⁶⁾に比べ2-3倍高かった。筑波山の窒素飽和が懸念されていることから、恐らく森林土からの流出によるものと考えられる⁷⁾。N₂Oは春季から夏季にかけては検出下限値以下であったが、秋季から冬季にかけて低濃度域で検出された(0.25-0.41 μg-N/L)。一方、桜川下流では、上流の山口川と比べ、ほとんどの月で各溶存窒素濃度を上回った。桜川下流流域には、水田が多く存在し、営農状況により河川に排出される窒素負荷は大きく異なるが、夏季にはNO₃-Nが減少し、山口川のNO₃-N濃度を下回る傾向が観察された。また、溶存N₂Oの挙動は山口川と同様に秋季から冬季にかけて上昇した。夏季には脱窒反応が卓越し、NO₃-NおよびN₂O濃度が減少するが、冬季の水温低下による脱窒反応速度の鈍化が溶存N₂O濃度増加を誘導した可能性が考えられる。なお、調査期間中のN₂Oの最大値は2014年2月の0.57 μg-N/Lで、これは後述する銚田川や高崎川の場合に比べ、かなり低い値であった。

北浦では、銚田川河口に近い地点では溶存N₂Oが高く、遠ざかるにつれて減少する傾向が観察された。また、山口川、桜川同様、秋季から冬季にかけてN₂Oが増加する傾向が観察された。



図5 調査地点(霞ヶ浦流域)

*山口川の採取地点は省略

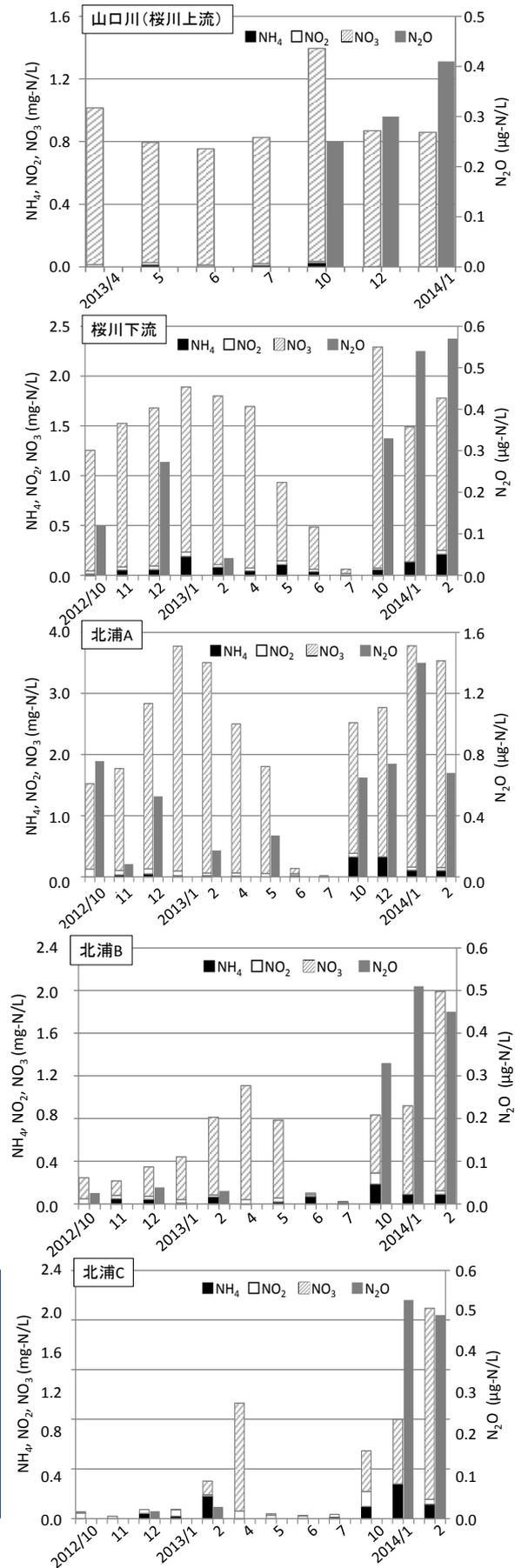


図6 調査結果(霞ヶ浦流域)

銚田川の調査では、支流Aで N_2O が最大 $92 \mu\text{g-N/L}$ (算術平均 $56.6 \mu\text{g-N/L}$) と顕著に高く、月ごとに変動が大きい、最小となった2014年6月時の調査でも $25 \mu\text{g-N/L}$ と非常に大きい値となっていた。糸川らの行った東京都内の河川調査では⁸⁾、概ね $8\text{--}23 \mu\text{g-N/L}$ であったことから、銚田川支流Aでは非常に高濃度の N_2O が含まれていることが示された。また、 $NH_4\text{-N}$ が最大 14.6 (平均 3.1) mg-N/L 、 $NO_2\text{-N}$ が最大 9.3 (2.3) mg-N/L 、 $NO_3\text{-N}$ が最大 22.1 (17.9) mg-N/L と、他の河川水質に比べ極端に高い傾向が見られた。松森らの報告では⁹⁾、霞ヶ浦流入主要河川の年平均全窒素濃度は $1\text{--}8 \text{mg/L}$ と報告され、その中でも銚田川は、調査した24河川のうち最も窒素濃度の増加が確認された河川である(1972年から32年間のデータを使用)ことから、銚田川の水質悪化が高濃度の N_2O および流入先である北浦の水質に大きな影響を与えていることが示唆される。一方、支流Aの近くを流れる支流Bでは、支流Aとは対照的に高濃度の溶存 N_2O およびその他の溶存窒素は検出されず、銚田川上流とほぼ同程度の濃度だった。支流Aの上流には養豚場があることから、養豚由来の窒素成分が畑地を介して混入している可能性が考えられ、河川中で硝化もしくは脱窒反応により N_2O が高濃度に生じている可能性がある。したがって、河川から放出される N_2O 量を正しく評価するためには、銚田川支流Aのような極めて高濃度の N_2O が生成される地点も考慮に入れる必要があろう。また、銚田川上流と下流の水質を比較すると、銚田川支流A以外の他の支流からの窒素負荷の影響を受けていることが推察される。北浦の水質改善のためには、銚田川の水質改善が課題であり、各支流を詳細に調査することで面源負荷を抑制する対策を講じる、あるいは銚田川河川水を北浦に流入させる前に窒素を減少させるような対策が必要であると考えられる。

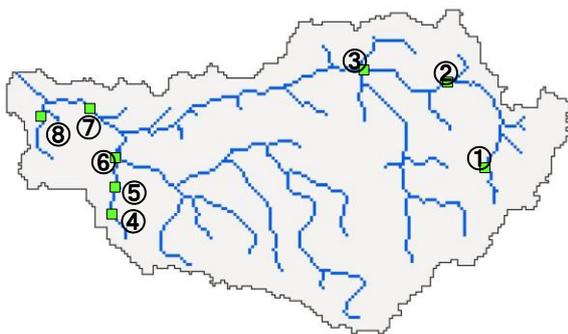


図8 調査地点(印旛沼高崎川)

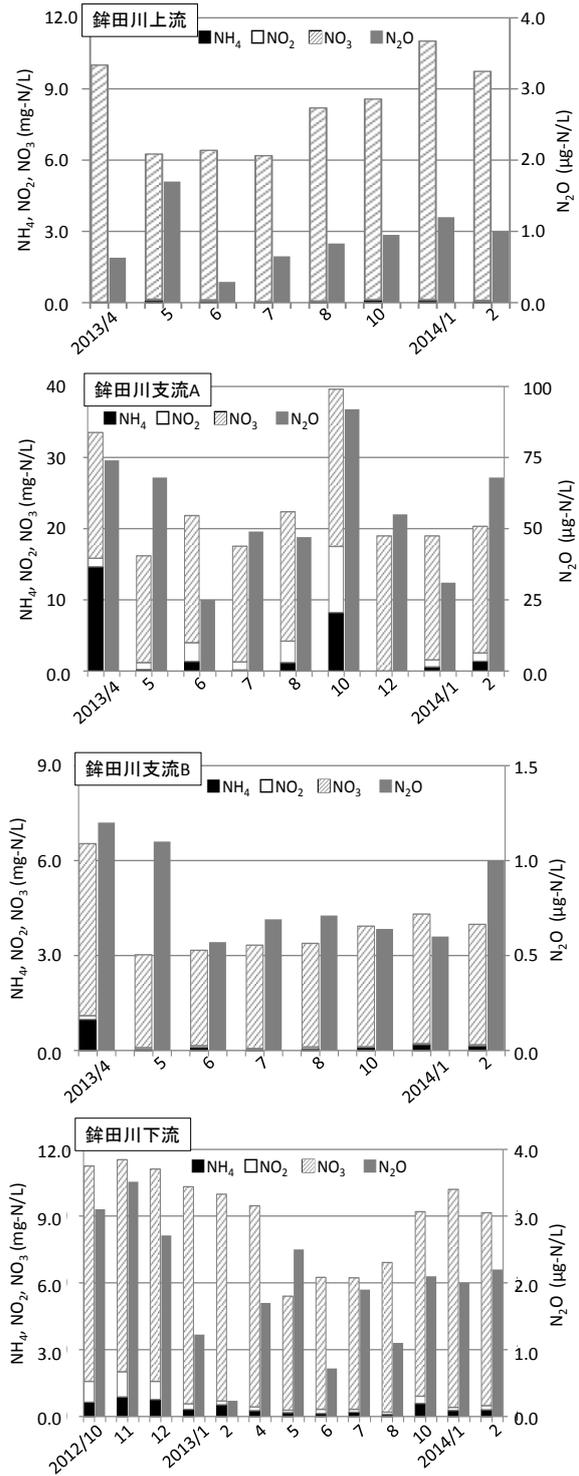


図7 調査結果(銚田川)

一方、銚田川同様に畜産の影響を受けていると考えられる印旛沼流域高崎川の調査(図8および図9)においても、上流の畜産が多い地域(①-③)では、銚田川の支流A同様、比較的高濃度の溶存N₂Oが検出された。また、森林の影響を大きく受けている地点(⑤-⑦)では、NH₄-N、NO₂-N、NO₃-Nはほとんど検出されなかったが、N₂Oは0.8-1.9 μg-N/Lと検出された。

2.3.2 銚田川におけるN₂O排出量調査

図10に銚田川で行ったN₂O発生量の調査結果を示す。なお、調査期間中4時間の溶存N₂O濃度は平均43.5±1.0 μg-N₂O/Lであった。チャンバー内のN₂O濃度を単位体積当たり、および、単位面積当たりの平均発生量に換算すると、それぞれ4.8 μg-N₂O/m²/h、27.7 μg-N₂O/L/hであった。支流Aでは溶存N₂Oは比較的速度やかに大気中に放出されていることが示唆された。下水処理場では流入下水1Lに対してN₂Oが160 μg排出されると試算されることから¹⁰⁾、河川におけるN₂O排出量も決して無視できない値であることが示唆された。

2.3.3 銚田川における雨天時の溶存N₂O調査

図11に銚田川支流Aにおける雨天時の溶存N₂O濃度およびフラックスの経時変化を示す。晴天時に行った2014年2月の調査では、NH₄-Nが1.4 mg-N/L、NO₂-Nが1.1 mg-N/L、NO₃-Nが17.8 mg-N/L、N₂Oが86.0 μg-N₂O/Lだったのに対し、降雨時は降雨の影響で河川水が希釈されているにもかかわらず、NH₄-NやN₂Oの濃度上昇が確認され、それぞれの増減ピークはほぼ一致し、降雨が止んだ4時間後の午前9時にはN₂Oが89.0 μg-N₂O/Lと晴天時の値に戻った。一方、各フラックスを比較した場合は、ピークは降雨とほぼ一致し、平水時の数倍の負荷量になっていることが示された。増水時に河川中で検出された溶存N₂Oが増水時の河川で生成されたものか、周辺の土壌中で生成されたものかは今回の調査からはわからなかったが、NH₄-NやNO₃-N等の溶存窒素の挙動とほぼ一致することから、河川のN₂Oは雨天時に畑地等を介して河川に流入する溶存窒素成分に大きく影響を受けることが示唆された。また、午前1時から5時までの間、NO₃-N濃度の減少が確認された。河川底質の有機物の巻き上げにより、脱窒が生じ、NO₃-Nを消費し、NO₃-N濃度低下後は、亜硝酸脱窒もしくはヒドロキシルアミンの酸化によりN₂Oが生じたものと考えられる。

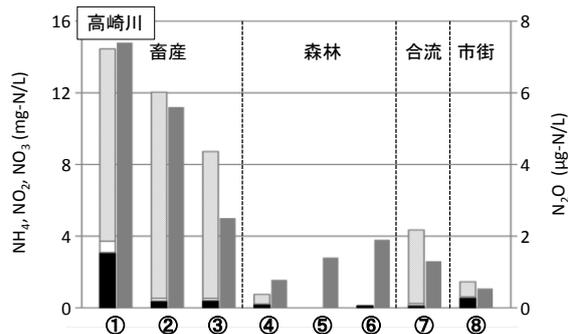


図9 調査結果(印旛沼高崎川)

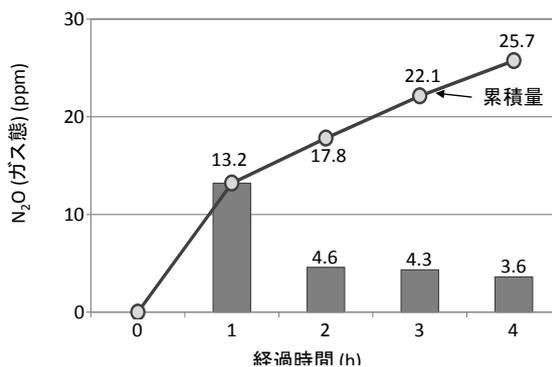


図10 ガス態N₂O発生量

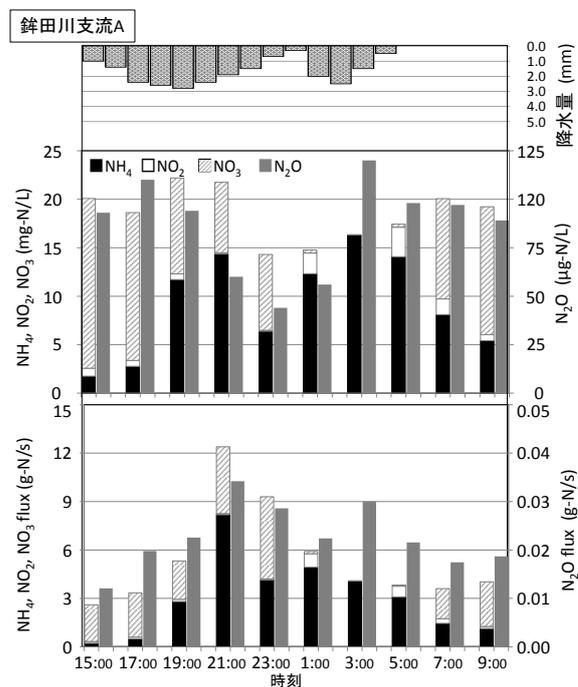


図11 銚田川支流Aにおける雨天時の溶存N₂O濃度およびフラックスの経時変化

2.3.4 下水処理水放流先における晴天時の溶存 N₂O 調査

図 12 に高濃度アンモニアの高速処理を実験的にを行っている A 市下水処理場の放流河川先の模式図を、図 13 に N₂O 調査の結果を示す。放流口 1 から約 100 m 上流の水質は、N₂O が 0.8 μg-N₂O/L だったのに対し、放流口 1 付近では、102.5 μg-N₂O/L と高い値であった。過去の報告によると通常の下水処理水の N₂O 濃度は 0-350 μg-N₂O/L¹¹⁾ であることから、比較的高い値であることがわかる。また、放流口 1 から 300 m 下流 (図中の中流) では 6.4 μg-N₂O/L、放流口 2 から 150 m 下流 (図中の下流) では、1.6 μg-N₂O/L と低下した。他の支流と合流する地点 (図中の最下流) では、3.0 μg-N₂O/L とわずかに増加した。このことから、高濃度の N₂O が放流されたとしても、この河川の場合、速やかに希釈され (希釈倍率はおよそ 20-30 倍)、下水処理水中の溶存 N₂O が河川水質に与える影響は少ないと考えられる。むしろ、支流との合流地点で N₂O 濃度が上昇していることから、この河川の場合、河川底質から発生する N₂O の方が影響は大きいと考えられる。また河川中の溶存 N₂O が直接大気放出される割合や脱窒分解反応により水中で N₂ まで還元されるかについて、今後、検討が必要である。

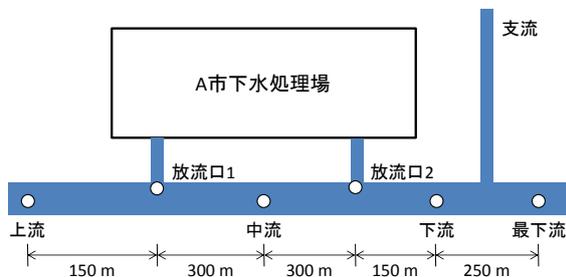


図 12 A 市における調査地点図

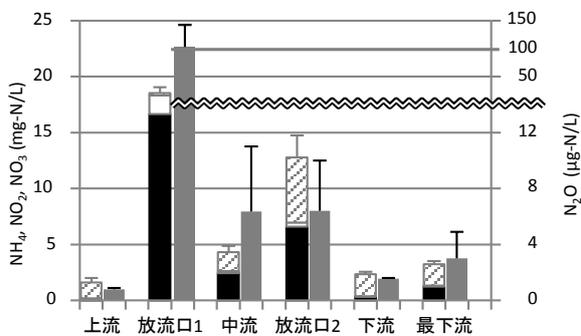


図 13 A 市における調査結果

3.室内実験

3.1 実験方法

下水処理水には NH₄-N や NO₃-N が含まれる場合があり、下水処理水が湖沼に放流あるいは流入した場合、そこで N₂O が生成している可能性がある。そこで、下水処理水が放流される湖沼での N₂O の生成・還元挙動の一端を明らかにするため、室内実験で NO₃-N が多く含まれる下水処理水と湖底泥を二層で静置し、溶存 N₂O の生成・還元挙動をマイクロセンサーにより連続モニタリングした。

写真 1-3 にマイクロセンサーによる溶存 N₂O の測定様子を示した。N₂O マイクロセンサーには溶存 N₂O 濃度をリアルタイムで測定できる Unisense 製を使用した。容器は 50 mL バイアルを用い、霞ヶ浦底泥 6 g の上に実下水処理水または蒸留水を満水に注ぎ、穴を開けたプチルゴム栓をはめ、センサーの先端を試料水中に挿入し、ゴム栓との間に空隙がないようにした状態で溶存 N₂O の連続測定を行った。シグナル強度値は 5 秒間隔で自動記録し、測定開始日に作成した検量線で溶存 N₂O 濃度に換算した。装置一式は 20°C に設定した恒温器に設置した。測定期間は、N₂O が検出されなくなるまでとし、その期間は 11 日間であった。N₂O 生成と底泥の有無の関係を把握しておくことも重要となるため、N₂O センサーによる測定は行わなかったが、下水処理水のみを入れた (底

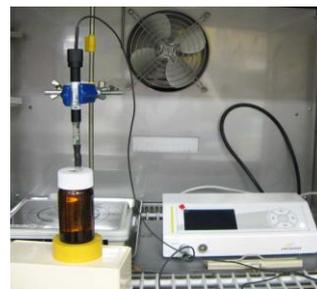


写真1 N₂O マイクロセンサーによる連続測定の実景



写真2 センサーの先端



写真3 センサー挿入部

泥はなし) バイアルも恒温器内に設置した。

バイアル内で硝化、脱窒のどちらが優先しているかを判断するため、実験開始時と終了時に、下水処理水の DO、pH、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、DOC 濃度を測定した。

3.2 実験結果

図 14 は、11 日間の N_2O 濃度の変化である。 N_2O 濃度は開始から約 3 時間は横ばいであった。その後、24 時間目までに急増した。2 日目に一旦増加が緩やかになったが、3 日目以降再び増加し、5 日目に最大値に達した。6 日目以降は、10 日目まで概ね一定の速度で減少し、11 日目に $0 \mu\text{gN/L}$ となった。

図 15 は、 N_2O 連続測定前後の下水処理水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、DO、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、DOC 濃度である。底泥ありの条件では実験前後で $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は 99.5% 減少し、DO も減少していた。底泥なしの条件では $\text{NO}_3\text{-N}$ は変化していないことから、底泥が脱窒

を促進していることがわかる。湖底泥に下水処理水を加えた本実験での溶存 N_2O は脱窒過程で生成され、 $\text{NO}_2\text{-N}$ の蓄積がみられないことから大部分は N_2 まで脱窒されたものと考えられる。なお、DO の連続モニタリングは行っていないため、どの時点でゼロ付近になったか明らかではない

連続測定の結果から見かけの N_2O の生成・還元速度を以下の手順で計算した。溶存 N_2O 濃度データを 1 時間間隔で抽出し、各時間とその前後 2 時間の濃度値に最小 2 乗法で直線を当てはめて傾きを計算し、各時間の濃度の平均変化率とした。そして、濃度の平均変化率に試料水量を掛け、底泥重量で割り、1 時間あたりの見かけの N_2O の生成・還元速度を求めた。図 16 は、 N_2O の見かけの生成・還元速度である。 N_2O の生成速度は 0~1 日目に高く、13 時間目に最大となった。今回の培養実験では、4~5 日目にも N_2O の生成速度が高

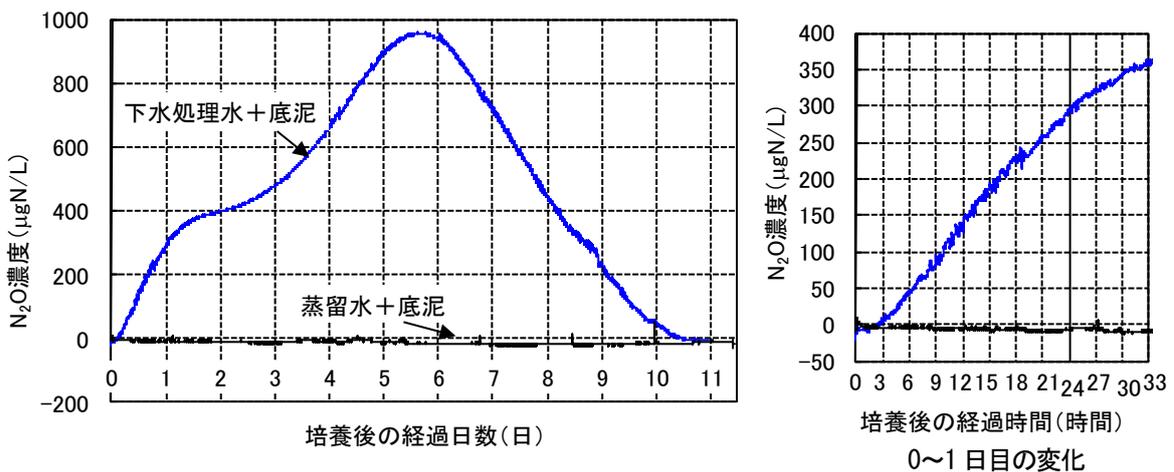


図 14 培養中の溶存 N_2O 濃度の変化

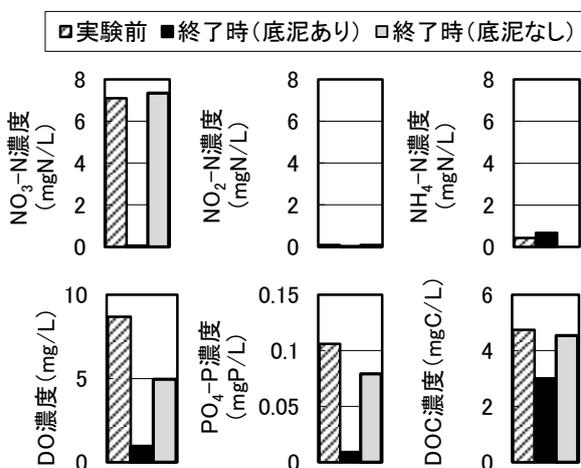


図 15 底泥に下水処理水を加えた試料の実験前後の $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、DO、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、DOC 濃度

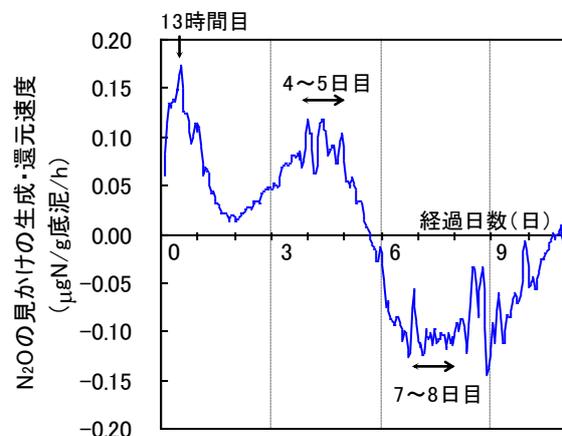


図 16 底泥に下水処理水を加えた試料における、 N_2O の見かけの生成・分解速度

くなったが、この原因は明らかでない。

N₂Oの還元は、見かけ上5-6日目に始まっていることがわかる。7-8日目は、見かけのN₂Oの還元速度は概ね一定であった。

今回の実験は、密閉系で嫌気雰囲気下での実験であったことから、脱窒過程でのN₂Oの生成・還元をモニタリングしていたと考えられる。本実験結果から、湖底泥上層が嫌氣的な状態になった場合、溶存N₂Oが生成される可能性がある。一方で、脱窒も同時に進行することから滞留時間の長い湖では溶存N₂Oは未検出になるものと考えられる。ただし、水温が低く脱窒が抑制される場合は、溶存態N₂Oは検出されると推察された。

4. おわりに

1) 様々な特徴を持つ河川・湖沼において、溶存N₂Oの通年調査を行った。その結果、集水域に家畜や畑地が多い河川では、比較的高濃度のN₂Oが検出された(晴天時での最大;92 µgN/L)。その他の地域では、夏季には検出下限値(0.25 µgN/L)以下になることが多く、秋季から冬季にかけて若干増加する傾向が観察された。

2) 集水域に家畜や畑地が多い河川では、雨天時に溶存N₂O濃度が増加することが確認された(86 µgN/L → 120 µgN/L)。これは、雨天時に土壌から流出する窒素成分に由来するものであると推察された。

3) 高濃度アンモニアの高速処理を実施している下水処理場からは比較的高濃度のN₂O(約100 µgN/L)が検出された。しかしながら、放流後、速やかに希釈されることから、下水処理水中の溶存N₂Oが河川水質に与える影響は少ないと考えられた。

4) NO₃-Nが多く含まれる下水処理水と湖底泥を二層で静置し、溶存N₂Oの生成・還元挙動をマイクロセンサーにより連続測定した実験結果から、湖底泥上層が嫌氣的な状態になった場合、溶存N₂Oが生成される可能性があった。

参考文献

- 1) Bates, B. C., et al., (2008) Climate Change and Water (Technical Paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change). IPCC Secretariat.
- 2) Colliver B. and Stephenson T. (2000) Production of nitrogen oxide and dinitrogen oxide by autotrophic nitrifiers. *Biotechnology advances*, 18, 219-232.
- 3) Law, Y., Ye, L., Pan, Y., and Yuan, Z. (2012) Nitrous oxide emissions from wastewater treatment processes.

Philosophical Transactions of the Royal Society B, 367, 1265-1277.

- 4) 花木啓祐、中村剛雄、松雄友矩、糸川浩紀 (2000)、都市下水の硝化脱窒過程での亜酸化窒素の発生、*水環境学会誌*, 23(12), 803-810.
- 5) Muneoki YOH (1990) Experimental examination on nitrous oxide accumulation during nitrification in a freshwater lake, *Japanese Journal of Limnology*, 51(4), 237-248.
- 6) 木平英一、新藤純子、吉岡崇仁、戸田任重 (2006)、わが国の渓流水質の広域調査、*日本水文学会誌*, 36, 145-149.
- 7) 渡邊未来 (2009)、空から降る金属、*生物工学会誌 バイオメディア*, 87, 109.
- 8) 糸川浩紀、花木啓祐、松尾友矩 (1993)、都市河川における一酸化二窒素の変化に関する調査、*環境工学研究フォーラム講演集*, 30, 118-120.
- 9) 松森堅治、板橋直 (2009)、霞ヶ浦流域の主要河川の窒素濃度変化とその要因解明、*農村工学研究所技報*, 210, 61-73.
- 10) 下水道における地球温暖化防止対策検討委員会 (2009) 下水道における地球温暖化防止推進計画策定の手引き、国土交通省
- 11) 對馬育夫、松橋学、宮本綾子、原田一郎 (2014)、平成24年度下水道関係調査研究年次報告書集、773、45-52.

Behavior of Nitrous Oxide Influenced by Water Quality in Water Environments

Budget: Grants for operating expenses (General account)

Research Period: FY2011-2013

Research Team: Water Quality Research Team

Authors: Seiichiro OKAMOTO, Tomokazu KITAMURA, Ikuo TSUSHIMA

To elucidate the actual condition of nitrous oxide (N_2O) generated in water environments such as rivers and lakes, a field survey was conducted throughout the year in part of the catchment basins of Lake Kasumigaura and Inbanuma, and a river that discharged from a wastewater treatment plant. In addition, batch tests were conducted to evaluate the amount of generated N_2O by using lake-bottom sediment, river water and final effluent from a wastewater treatment process. The results showed there was a significant amount of dissolved N_2O in the river that had a high proportion of domestic animals and farmland in its catchment. Moreover, batch tests suggested that bottom sludge and high concentrations of nitrate are involved in N_2O generation, whereas high concentrations of ammonium do not enhance the generation of N_2O . Therefore, the generation of N_2O was indicated to be dominated by a denitrification process rather than a nitrification process. In the first 24 hours of a denitrification process, the N_2O generation rate was higher; after that, the accumulated N_2O was reduced.

Keywords: *Nitrous oxide, Rivers, Lakes, Factual investigation, Batch test, Nitrification, Denitrification*