

感潮河川の底泥における窒素変換に関する基礎的研究

九州大学工学部 学生員○井上 憲 正 員 大石京子
同 上 正 員 古米弘明 正 員 楠田哲也

1. はじめに 半閉鎖性水域の底泥において、自浄作用の重要な要因である硝化、脱窒といった窒素変換機能を評価するため、六角川(佐賀県)の河口付近(河口より約4km地点)及び六角橋付近(河口より約11km地点)の底泥を対象にして、酸素消費速度、脱アミノ、硝化、脱窒の各反応実験から得られたデータをもとに、底泥中の窒素変換のシミュレーションを行い、両地点での窒素変換能を評価した。ここで、底泥における窒素変換能を評価する際に、底泥中の好気、嫌気の状態を把握することが必要となる。その指標として、溶存酸素濃度や酸化還元電位の測定は有効な手段ではあるが、非常に複雑な系を持つ底泥中での実測は困難であり、その測定値をその層での代表値とするには無理がある。そこで、底泥中の酸化還元部位の分布状態を調べる手段として、ニトロブルーテトラゾリウム(NBT)を用いて検討を行った。また、底泥中の好気性微生物の分布状態をチトクロム酸化酵素の活性を調べることにより検討した。

2. 実験方法

供試底泥：六角橋付近で、大潮の干潮時にコア状で底泥を採取し、間隙水中の各態窒素濃度、 Cl^- 濃度を測定した。別に、底泥表面から0-1, 1-3, 3-5, 5-7cmの4層に分け、その強熱減量および含水比を測定し、酸素消費速度、脱アミノ、硝化、脱窒の各反応速度を求めた。反応条件は成富らの方法¹⁾に従った。

NBT法による底泥中の酸化還元部位の検討：0.2Mリン酸緩衝液(pH=7.4)100mℓで寒天2gを煮溶かし、NB T50mgを5mℓの水で溶かして加えシャーレに流し固める。コア状の底泥を鉛直方向にスライスし、その上にホルマリンを数滴落とし、空気が入らないようにゲル化した反応液上に置き25℃で12時間インキュベートした。

チトクロム酸化酵素による好気性微生物分布の検討：p-アミナジフェニルアミン20mgと1-メチルピロリジン-2-ナフト酸20mgを1mℓのメタノールで溶かし蒸留水10mℓを加える。これに0.2Mリン酸緩衝液(pH=7.4)10mℓを加えよく混合した後ろ過する。別に寒天2gを蒸留水60mℓ、0.2Mリン酸緩衝液20mℓで煮溶かし、ろ液を加えシャーレに流し固める。ゲル化した後、コア状の底泥切片を置き25℃で15分間インキュベートした。活性部位には青黒色の色素が沈着する。対照として、この酵素活性を特異的に阻害する物質 Na_2S を最終濃度で5mMの割合で反応液に加えた。

モデル式：窒素変換速度はMonod式で表されるとき、最小自乗法を用いて $V_{\max}$, K_s を求めこれらのデータをもとに底泥中の窒素変換のシミュレーションを行った。まず次の物質変換式から底泥各層での酸素消費速度及び各態窒素変換速度を求め、次に物質収支式から各層における溶存酸素濃度及び各態窒素濃度を推定した。

物質変換式

$$\begin{aligned} R_1 &= \frac{V_{\max R_1} \cdot C_{\text{NH}_4}}{K_{S_1} + C_{\text{NH}_4}} - \frac{C_{\text{DO}}}{K_{\text{DO}, R_1} + C_{\text{DO}}} \text{ SS} && \text{アンモニア酸化} \\ R_2 &= \frac{V_{\max R_2} \cdot C_{\text{NO}_2}}{K_{S_2} + C_{\text{NO}_2}} - \frac{C_{\text{DO}}}{K_{\text{DO}, R_2} + C_{\text{DO}}} \text{ SS} && \text{亜硝酸酸化} \\ R_3 &= \frac{V_{\max R_3} \cdot C_{\text{NO}_3}}{K_{S_3} + C_{\text{NO}_3}} \left(1 - \frac{C_{\text{DO}}}{K_{\text{DO}, R_3} + C_{\text{DO}}}\right) \text{ SS} && \text{硝酸還元} \\ R_4 &= \frac{V_{\max R_4} \cdot C_{\text{NO}_2}}{K_{S_4} + C_{\text{NO}_2}} \left(1 - \frac{C_{\text{DO}}}{K_{\text{DO}, R_4} + C_{\text{DO}}}\right) \text{ SS} && \text{亜硝酸還元} \\ R_5 &= V_{\max R_5} \cdot \text{SS} && \text{アンモニア化} \\ R_6 &= \frac{V_{\max R_6} \cdot C_{\text{DO}}}{K_{S_6} + C_{\text{DO}}} \text{ SS} && \text{酸素消費} \\ R_7 &= 3.22 \cdot R_1 && \text{アンモニア酸化による酸素消費} \\ R_8 &= 1.11 \cdot R_2 && \text{亜硝酸酸化による酸素消費} \end{aligned}$$

物質収支式

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_{\text{DO}}}{\partial t} &= \frac{\partial}{\partial z} \left(\phi \cdot D_{\text{DO}} \frac{\partial C_{\text{DO}}}{\partial z} \right) - (R_6 + R_7 + R_8) \\ \frac{\partial C_{\text{NH}_4}}{\partial t} &= \frac{\partial}{\partial z} \left(\phi \cdot D_{\text{NH}_4} \frac{\partial C_{\text{NH}_4}}{\partial z} \right) - R_1 + R_5 \\ \frac{\partial C_{\text{NO}_2}}{\partial t} &= \frac{\partial}{\partial z} \left(\phi \cdot D_{\text{NO}_2} \frac{\partial C_{\text{NO}_2}}{\partial z} \right) + R_1 - R_2 + R_3 - R_4 \\ \frac{\partial C_{\text{NO}_3}}{\partial t} &= \frac{\partial}{\partial z} \left(\phi \cdot D_{\text{NO}_3} \frac{\partial C_{\text{NO}_3}}{\partial z} \right) + R_2 - R_3 \end{aligned}$$

ここに、 $V_{\max}$: ($\mu\text{gN}/\text{cm}^3 \cdot \text{hr}$) K_s : ($\mu\text{gN}/\ell$)
 C_{DO} : 溶存酸素濃度 ($\mu\text{g}/\ell$) C_{NH_4} , C_{NO_2} , C_{NO_3} : 各態窒素濃度 ($\mu\text{gN}/\ell$) D : 拡散係数 (cm^2/hr) ϕ : 空隙率
 z : 0.5cm t : 0.4hr

また、各底泥層における各態窒素濃度の初期値は実測値に基づいて定めた。

3. 結果及び考察 六角橋付近の底泥における間隙水中の各態窒素濃度の実測値の鉛直分布を図1に、上記モデル式による底泥中のDO及び窒素変換のシミュレーション結果を図2に示す。シミュレーションによる各態窒素濃度は比較的実測値に近い分布が得られた。底泥中でのDO濃度を実測していないが有機物酸化、硝化

による酸素消費からシミュレーションすると図2のような分布をとるのではないかと考えられる。また、直上水中の NO_3^- -N濃度は一潮汐間に六角橋付近では $1.0 \sim 3.0 \text{ mg/l}$ 、河口付近では $0.5 \sim 3.0 \text{ mg/l}$ の範囲で変化する。これらは両地点での NH_4^+ -N、 NO_2^- -N濃度に比べ二桁高い値であるため、両地点においては脱窒が主な反応となっていると考えられる。そこで対象としている深さ7cmまでの脱窒量は六角橋付近、河口付近の底泥では各々 $144.1 \sim 362.9 \text{ mgN/m}^2 \cdot \text{hr}$ 、 $88.0 \sim 374.9 \text{ mgN/m}^2 \cdot \text{hr}$ と見積られた。

脱窒は嫌気性下で生じるがその酸素の限界濃度は一般に 0.2 mg/l 程度とされている。この値はモデル式によるシミュレーション(図2)において、底泥表層から2cm程度の所であるが、シミュレーションの際に脱窒域を2cm以下にとると実測値に近い値が得られなかった。従って、酸化層においても部分的に嫌気的な箇所が存在して脱窒が生じているのではないかと考え、底泥中の好気、嫌気の分布状態を検討した。NBTは標準酸化還元電位が約 -70 mV ($\text{pH}=7.0$)で還元されると青～青紫色のホルマザンを形成し、これは空気中の酸素では容易に再酸化されず底泥の色と容易に識別できるため、底泥の酸化還元部位の検索に適用できると考えられる。好気的条件下における脱水素酵素によるNBTの還元を抑制するため底泥にホルマリン処理を行った。その結果を写真1に示す。表層部に比べて下層部ではより強いホルマザンの形成が認められ、下層部にいくほど還元性の強いことを示している。しかし、底泥中の酸化還元部位は空間的にばらつきを持っており、表層部においても強い還元性を示す部位が点在することが示された。また、六角橋付近の底泥は表面から10cm程度まで泥の色が茶褐色で好気層が厚いと考えられるが、そこでもやはり還元性を示す部位が点在することがわかった。次に底泥中の分子状酸素の存在状態を調べるためチトクロム酸化酵素活性による好気性微生物分布の検討を行った。この酵素は好気性呼吸においてチトクロム系の末端に位置し、伝達された電子を直接分子状酸素に渡す酵素である。従って、この酵素の存在は分子状酸素を必要とする好気性微生物の存在を示すものと考えられる。その結果を写真2に示す。河口付近の底泥は底泥表面から5mm程度以下には酵素活性が認められないため、好気状態にあるのは底泥表面から5mm程度までと考えられる。これに対し六角橋付近の底泥は、底泥表面から約2cmまで強い酵素の活性がみられ、それ以下でも弱くなっているものの活性は認められた。これは酸素消費速度が河口¹⁾及び六角橋付近の底泥表層部で各々 $1.70 \times 10^{-1} \text{ mg/cm}^2 \cdot \text{hr}$ 、 $6.56 \times 10^{-2} \text{ mg/cm}^2 \cdot \text{hr}$ であり、底泥の強熱減量が各々約18～14%、約10%であったことから六角橋付近の底泥は河口に比べて有機物含有率が少なく酸素消費速度が小さいためと考えられる。

以上のことから河口部の底泥は六角橋付近の底泥より還元性が強いと考えられる。また、底泥中の酸化還元電位に重要な役割を果たしている Fe^{2+} 、 Fe^{3+} の分布を検討し、底泥の表層部分の酸化還元状態を把握した窒素変換モデルの構築が、今後の課題である。

<参考文献> 1)成富ら：感潮河川河口部底泥における窒素変換過程に関する基礎的研究、昭和63年度土木学会西部支部研究発表会講演概要集、pp284～285、1989

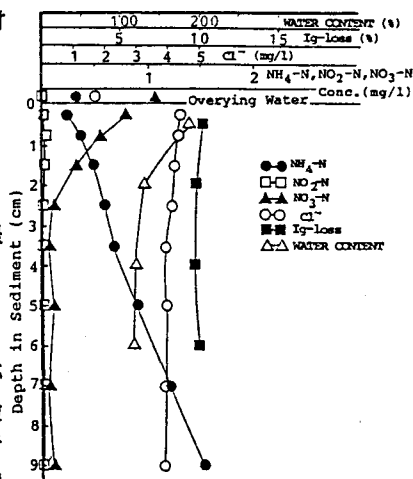


図1 底泥の間隙水中の各態窒素濃度他の実測値

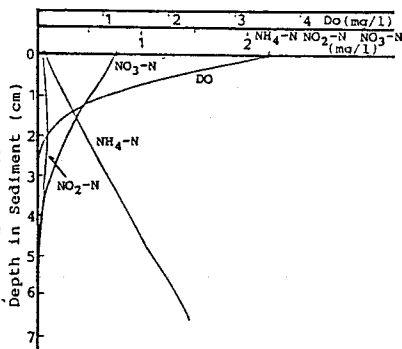
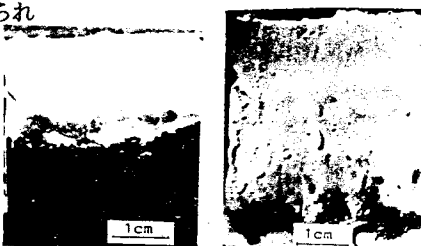


図2 底泥中のDO及び各態窒素濃度のシミュレーション



(a) 河口付近の底泥 (b) 六角橋付近の底泥
写真1 NBTによる酸化還元部位の検討



(a) 河口付近の底泥 (b) 六角橋付近の底泥
写真2 チトクロム酸化酵素活性部位