

底泥における N_2O の挙動に関する実験的研究

九州大学工学部 学生員○今村 正裕 学生員 永友 功一
正 員 大石 京子 正 員 楠田 哲也

1. はじめに

自然環境中(河川・海洋・土壌)からの N_2O 発生は、おもに生物学的な代謝と密接な関係をもつことが知られている。本研究が対象としている感潮河川(佐賀県六角川)河口域底泥は微生物代謝が活発な場である。これまで我々は、河口域底泥中における環境特性について測定を行い、多様な物質変換の場が存在することを明らかにしてきた。本研究は N_2O の制御・抑制を目的にしており、本報では河口域底泥における硝化・脱窒による物質変換過程において生成・蓄積される N_2O の挙動を明らかにするため、底泥中の N_2O の測定を行い、さらに実験により N_2O の還元・生成速度を求め、これらの結果より底泥中における N_2O 蓄積に関して基礎的見地を得たので報告する。

2. 測定及び実験方法

供試底泥：住之江橋付近(河口から約4 km地点)で、大潮の干潮時(1992年7, 8, 10, 12月)にコア状で底泥を採取し、表層から0-0.5, 0.5-1.0, 1.0-1.5, 1.5-2.0, 2.0-3.0, 3.0-4.0, 4.0-6.0 cmの7層に分割し、各間隙水中の各態窒素濃度(N_2O も含む)、塩化物イオン濃度及び有機物含有量を測定した。 N_2O の測定は、ECD検出機付きガスクロマトグラフで行った。還元・生成速度を求める実験には、1992年10月に採取した底泥を用いた。

N_2O 還元・生成速度実験(培養条件)：底泥試料(表層より1.5 cmまで)を入れた70 ml容の培養瓶を2本ずつ用意し、蒸留水20 mlを加え泥に含まれる NO_2^- 、 NO_3^- 及び溶存酸素を消費させるため、25℃で24時間前培養を行った。培養瓶中の気相をArで置換後、それぞれに基質として N_2O 飽和溶液、 KN_2O_3 、 $NaNO_2$ 溶液を添加し、25℃嫌気・暗条件下で培養した。その後、それぞれの培養瓶の気相中の N_2O を測定し、それから還元及び生成速度を求めた。

3. 結果及び考察

1992年7, 8, 10, 12月の底泥中における N_2O 、塩化物イオン濃度の鉛直分布を図-1, 2に示す。河口域底泥における N_2O の濃度分布は表層から1.5 cmの間にピークが存在し、それより以下の層では殆ど存在しないことが分かる。河川水中では底泥中と比較すると N_2O 濃度が低い。よって表層から1.5 cm付近までが N_2O 生成に関する活性が高いと考えられる。また N_2O の蓄積が7月から1月にかけて減少していることが分かる。河川水から底泥への NO_2^- -N供給の変化は小さいので、これは底泥中の温度変化が微生物活性に影響を与えたことによると考えられる。

塩化物イオン濃度は直上水の干満による影響を受けるので、底泥中においても大きく変化していることがわかる。しかし、底泥中では表層から0.25 cmと5.0 cmで少なくとも1 mg/lの違いが見られ、10, 12月などは表層から以深に行くにしたがって低下している。これはバクテリアなどの生物による影響ではないかと考えられる。底泥中の塩化物イオンが低濃度の場合、高濃度の場合と比較し N_2O の蓄積が顕著に見られ、底泥中の塩化物イオン濃度が N_2O の還元に関してなんらかの影響を及ぼしているといえる。

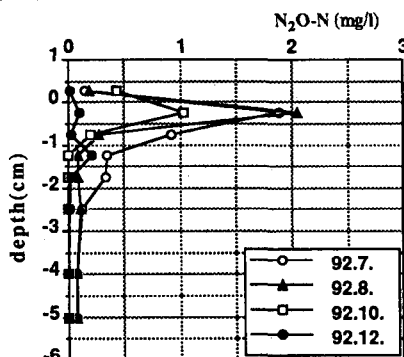
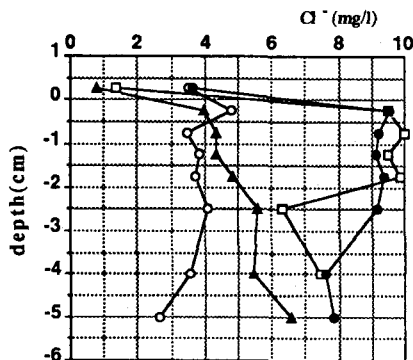
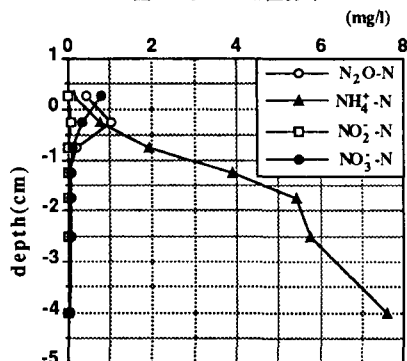
図-1. N_2O の鉛直分布図-2. Cl^- の鉛直分布

図-3. 各態窒素の鉛直分布

各態窒素濃度の鉛直分布の代表例を図-3に示す。表層から0.25cmで $\text{NO}_3^- - \text{N}$ はわずかに検出されたが、さらに下層方向にいくと検出されなかった。 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ は河川水から供給され、下層方向への $\text{NO}_3^- - \text{N}$ の減少に伴う $\text{N}_2\text{O} - \text{N}$ の増加が認められる。これは表層付近(0~1.5cm)で $\text{N}_2\text{O} - \text{N}$ 生成(脱窒)が起こっていると推測される。また粒子態有機物含有量の指標である強熱減量及び間隙水中のTOCは、表層から下層にかけ平均して10%程度、TOCでも10mg-C/l存在することが明かにされており、TOCが易分解性だとすると有機物の供給律速による N_2O 蓄積は考えられない。そこで N_2O 還元生成に関する反応速度を検討するため、蓄積の高い表層から1.5cmまでの底泥を用い基質消費速度を求める実験を行った。実験条件及び N_2O の経時変化を表-1、図-4,5,6に示す。硝酸・亜硝酸を添加した試料については、 pH 阻害法³⁾により N_2O の還元を阻害した試料と約100時間まで同じ傾向をみせている。また N_2O を添加した試料についても100時間程度まで N_2O の減少は見られない。これは N_2O 還元酵素がなんらかの阻害物質によって阻害されているか、還元酵素合成に要する時間であろう(馴致時間不足)と思われる。さらに、 N_2O 還元実験における試料内のORP及び SO_4^{2-} の測定を行った。100時間まではORPの変化は見られずその後徐々に減少している。また300時間まで SO_4^{2-} の減少はなかったので硫酸還元は起きておらず、ORPから判断しても脱窒の領域で物質変換が行われているといえる。ここで図-4より N_2O 還元速度における V_m 、 K_s を求めると、それぞれ0.053 ($\mu\text{mol-N/l}\cdot\text{hr}$)、0.37 ($\mu\text{mol-N/l}$)と推定され NO_3^- 、 NO_2^- 添加による生成速度のほうが約2~3倍大きい。また N_2O の濃度が1.5mg/l前後から N_2O 還元活性を阻害する傾向がみられる。 N_2O 還元・生成速度の差、または底泥中での約1.5mg/l以上の N_2O 存在が N_2O 蓄積を引き起こす要因になると考えられる。

また塩化物イオンの N_2O 還元への影響を検討するため、塩化物イオン濃度の異なる溶液(塩化物イオン濃度0~10mg/l)で各試料を前培養し N_2O の還元実験を行った。塩化物イオン濃度が高くなるにつれて還元速度は増加傾向を見せている。高濃度での測定を行っていないが、河口域では海洋性微生物も多く、それらの微生物に対し塩化物イオンが N_2O の還元酵素活性に影響を与えたと考えられる。つまり底泥中における高塩化物イオン濃度は N_2O 還元を促進すると思われ、それによる蓄積の減少が見られたのではないかと考えられる。

今回の実験は無酸素状態でのみ行ったが、表層から2~3ミリ程度までは溶存酸素が存在する。底泥中の酸素濃度分布はORPより推測でき、底泥における溶存酸素濃度の N_2O 還元への影響把握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講演概要集、1989
- 2) 今村ら：底泥表層部におけるORP分布の検討、平成4年度土木学会年次講演概要集、1992
- 3) 吉成ら：Acetylen inhibition of nitrous oxide re-duction and measurent of denitrification and nitrogen fixation in soil. Soil. Biol.Biochem.9:177-187,1977

表-1 実験条件及び N_2O 生成・還元速度

添加基質	N_2O	NO_3^-	NO_2^-
乾燥泥重量(g)	5.2	4.6	4.7
初期基質添加量 $\mu\text{mol-N/flask}$	20	430	86
N_2O 生成速度 $\mu\text{mol-N/g/hr}$		0.020	0.044
N_2O 還元速度 $\mu\text{mol-N/g/hr}$	0.010	0.012	0.013

pH (7~8前後)、preincubation: 25℃、24時間

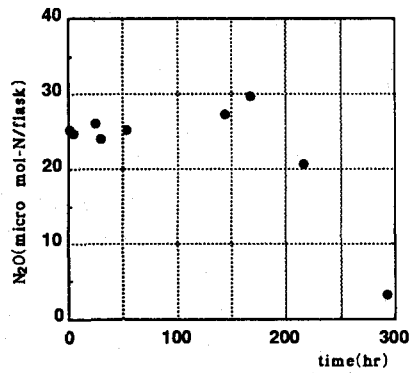


図-4 N_2O 添加による N_2O の経時変化

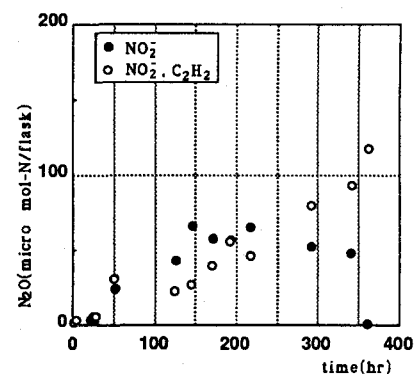


図-5 亜硝酸添加による N_2O の経時変化

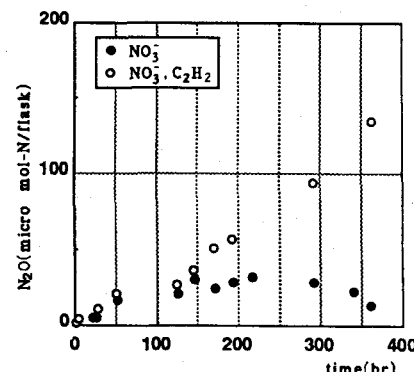


図-6 硝酸添加による N_2O の経時変化