硝酸態窒素に着目した無酸素化水域の底質近傍での 水質動態特性に関する実験的研究

鬼木彩香¹・原田昌佳²・平松和昭³・田畑俊範⁴

Experimental Study on Dynamics of Water Qualities near Bed Material in Anoxic Water Area Focused on Nitrate Nitrogen

Ayaka Oniki¹, Masayoshi Harada², Kazuaki Hiramatsu³ and Toshinori Tabata⁴

Abstract: Quantitatively clarifying bio-chemical water quality dynamics as affected by anaerobic microorganisms such as denitrifying bacteria, iron-reducing bacteria and sulfate-reducing bacteria plays an important role in understanding the mechanism of water environment deterioration that accompanies organic pollution. Accordingly, beaker-scale laboratory experiments were conducted in order to obtain basic knowledge concerning water quality dynamics such as ORP, nutrient salts, sulfides, and so on, near bed material under anoxic conditions. Assuming that denitrification initially caused by anaerobic respiration impacts the reduction half-reactions that later occur in phases, the purpose of this research was as follows: based on the impact of the concentration of nitrate ($\text{NO}_3\text{-N}$) at the point when an anoxic state was reached with the increase of phosphate ($\text{PO}_4\text{-P}$), ammonium ($\text{NH}_4\text{-N}$), and sulfides under anaerobic conditions, their water quality dynamics were quantitatively assessed in relation to change over time of ORP. As a result, the dynamic properties of ORP under anaerobic conditions could be characterized in five steps, suggesting that the rate of decrease of ORP at each step is influenced by the initial $\text{NO}_3\text{-N}$ content, and the higher the initial $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration, the longer ORP took to reach equilibrium of the minimized electric potential. Also, the characteristics of increases in $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, sulfides, and DOC can be explained in relation to the transition between ORP steps, and that their water quality dynamics were modeled with either linear or non-linear regressions. Thus, it was concluded that we were able to estimate the dynamics of $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, sulfide and DOC conveniently through monitoring of ORP while considering the influenced of initial $\text{NO}_3\text{-N}$ levels on these water quality items.

Keywords: Organic pollution; Dissolved oxygen; Oxidation-reduction potential; Sulfide; Release of Nutrient salt

1 はじめに

有機汚濁が進行した閉鎖性水域の抱える水環境問題として、夏季の水温成層の形成に伴う水域の貧酸素化・無酸素化が挙げられる。これは、水生生物の酸欠死や栄養塩の溶出、硫化水素の発生、底質のヘドロ化など更なる水環境の劣化につながる。このような現象の多くは、水域の嫌気的条件下での生物化学的反応と関係付けられ、例えば、鉄還元はリンの溶出を引き起こし、硫酸還元は硫化水素の発生の原因となる。このような水環境劣化のメカニズムの解明は、有機汚濁水域の保全・修復を考える上で重要な研究課題といえる。とくに、底質が水質動態に与える影響の大きさを考慮すると、嫌気性微生物が介在する生物化学的な物質循環の把握は重要な位置付けにある。

ところで、嫌気的条件下のもと、酸素を含む無機化合物を利用した還元半反応は、酸化還元電位(ORP)の高いものから段階的に生じる。水環境中で生じる主なものを順に挙

げると、脱窒、鉄還元、硫酸還元、メタン発酵である(寒川・日色, 1996)。熱力学的見地に基づく、水域のORPとpHを測定すれば、どの段階の還元半反応が生じているかを知ることができ(武田, 2001)、嫌気的条件下で生じる還元半反応の定量的評価は可能であるといえる。しかしながら、実際の水域では様々な微生物を介して多くの酸化還元反応が共存しており、複雑な反応系は未解明である。例えば、鈴木ら(2005)はリンの溶出傾向の指標として ORP が有効である可能性を示したものの、これを通じた定量的評価までには検討すべき点が多い。さらに、貧酸素状態にある水域の ORP の推定に関する知見はあるものの(武藤・金, 1986)、無酸素化が進んだ嫌気的環境下の実水域を対象とした研究例は非常に少ない。このような背景を踏まえ、原田ら(2014)は、有機汚濁現象が顕在化する貯水池の水質モニタリング結果に基づき、ロジスティック曲線を用いることで嫌気的条件下での ORP の動態をモデル化するとともに、ORP と関連付けて硫化物、アンモニア態窒素($\text{NH}_4\text{-N}$)、リン酸態リン($\text{PO}_4\text{-P}$)の経時変化を線形回帰で評価した。しかしながら、水底直上 1m の底質からの影響が小さい位置を観測点とし、長期的な無酸素化によって強い還元状態となりうる水底近傍の水質動態を検討するまでには至っていない。西岡ら(2016)は、底質の影響を考慮に入れた水質動態の生物化学的特性に関する実験的研究として、直径 30cm、高さ 100cm の円筒水槽内に無酸素水域を模擬発生させ、嫌気的環境下のもと、底質近傍の水質モニタリ

¹ 九州大学大学院生物資源環境科学府修士課程 Master Course Student, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan

² 九州大学大学院農学研究院准教授 Associate Professor, Faculty of Agriculture, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan (Corresponding Author) E-mail: mharada@bpes.kyushu-u.ac.jp

³ 九州大学大学院農学研究院教授 Professor, Faculty of Agriculture, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan

⁴ 九州大学大学院農学研究院助教 Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan

グを行った。その結果、無酸素状態の ORP の動態をロジスティック曲線でモデル化するとともに、硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$)、硫化物の経時変化を線形回帰式で、また $\text{PO}_4\text{-P}$ と $\text{NH}_4\text{-N}$ の増加過程を非線形回帰式で評価した。さらに、ORPも含めた水質の経時変化の回帰式に含まれる係数が、実験に用いた試料水の $\text{NO}_3\text{-N}$ や有機物の濃度に依存していることを示した。しかしながら、これらが嫌気的条件下の $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、硫化物の動態に与える影響を定量的に評価するまでには至っていない。

そこで、嫌氣的有機物分解の中で最初に生じる脱窒がこれ以後の段階的に進む還元半反応に大きな影響を及ぼすとの知見(原田ら, 2014; 西岡ら, 2016)を踏まえ、無酸素化時の $\text{NO}_3\text{-N}$ の観点から嫌氣的条件下の $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、硫化物の動態特性について検討した。本研究では、微生物の活動が介在する水質-底質相互間の水質動態の生物化学的特性に関する基礎的知見を得るために、ビークスケールでの水質モニタリングを行った。これは、実貯水池の環境水と底質で満たしたビーク内を、暗所かつ大気遮断のもとで無酸素状態にし、嫌氣的条件下での底質直上の水質の経時変化を調べるための室内実験である。水質モニタリングの実施の容易さを勘案して本実験方法を採用した。実験に供した環境水の $\text{NO}_3\text{-N}$ を低濃度～高濃度の 4 段階で調整し、これを実験条件とすることで、無酸素化時の $\text{NO}_3\text{-N}$ が嫌氣的条件下での ORP、栄養塩・硫化物の経時的な変動特性に与える影響を検討した。とくに、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、硫化物の水質動態に関しては、濃度の増加開始のタイミングや増加速度に着目し、これらを定量的に評価した。その評価に経時データの線形・非線形回帰モデルを利用するとともに、ORP、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、有機物量などの水質項目との関連性も踏まえて考察した。

2 室内実験による嫌氣的条件下での水質モニタリング

2.1 実験方法

有機汚濁が顕在化し、夏季には水温成層の形成に伴う無酸素化が生じる水深約8mの貯水池の底質と貯留水を室内実験に用いた。底質は貯水池の中央部で採泥した試料、貯留水は護岸付近で採水した表層水である。図 1に示すように、容量500mlのトルビーク(底面積38.5cm²、高さ15.5cm)に底質約100ml(厚さ約2.5cm)と貯留水約450ml(水深約11.0cm)を入れた。なお、平均含水比が171.0%の湿試料約175gを底質として用いた。ビーク内の水面を流動パラフィンで覆うことで、大気からの酸素供給を遮断した。後述の通り一つの実験条件につき複数個のサンプルを用意し、これらを20℃に設定した恒温暗所室内に静置した。このようなサンプルの管理によって光合成による酸素生産と再曝気による酸素供給を抑制することで、夏季の有機汚濁水域で形成される深水層を模擬し、水底付近で観測される無酸素化をビーク内で再現した。以上のサンプルを用いて、無酸素状態の水質動態のモニタリングをビークスケールで行った。

次節で詳述する実験条件の1ケースあたり、約70個のビークを準備した。そのうち一つのサンプルでDOとORPの連続測定を行い、残りの試料水を水質の定期測定に供した。サンプルの準備において底質の攪拌による濁りが生じないように注水を行ったが、わずかな浮遊土粒子の影響にも配慮し、ビーク静置から約12時間後を実験開始時とした。ところで、サンプリング対象水域での水質の現地観測

図 1: 実験用ビークのイメージ図

結果によれば(原田ら, 2014)、水底近傍の無酸素化は6～7か月にわたって継続的に観測された。室内実験においてこのような長期間を対象とすると、水質の定期測定に必要なサンプル数は、週1回の頻度であっても膨大となる。同観測より、無酸素化から1か月経過後で、ORPが約-400mVの強い還元状態に至り、栄養塩や硫化物の増加が顕著に確認された。この点を踏まえて、好氣的から嫌氣的への状態変化に伴う水質動態の経時変化に焦点を当てるため、実験期間を約2か月間とした。

連続測定には、蛍光式 DO 計(ProODO, YSI/Nanotech 社製)と ORP 計(ProPlus, YSI/Nanotech 社製)を使用し、20 分間隔で DO・ORP データのロギングを行った。なお、蛍光式 DO 電極は応答性が速く、測定精度や再現性も優れていることから、本研究のような無流速場においても安定した連続測定の実施が可能である。また、ORP は測定電極を白金、比較電極を塩化銀とするセンサで測定されたものであり、水素標準電極による電位(Eh)への換算をしていない。ただし、測定値に 200mV を加えることで Eh のおおよその値を知ることができる。

定期測定は前半の約 1 か月間を 3 日間隔で、後半の約 1 か月間を 7 日間隔で実施し、約 2 か月間の実験期間で計 14～17 回の測定データを得た。測定 1 回につき 3～5 個のビークに対する水質分析を行うことで、準備したサンプルビークの状態による分析結果のばらつきを考慮した。分析には、親油性・疎水性素材の油吸着シートで流動パラフィンを除去したサンプルを供した。なお、本研究の主要な水質項目は、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、硫酸イオン(SO_4^{2-})、硫化物、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、全有機炭素量(TOC)、溶存態有機炭素量(DOC)の 7 項目である。これらの分析方法は次の通りである。 $\text{NO}_3\text{-N}$ と SO_4^{2-} の分析にはイオンクロマトグラフ法を採用した。硫化物と $\text{PO}_4\text{-P}$ についてはそれぞれエチレンブルー法、アスコルビン還元・モリブデン青法に基づく吸光光度法を採用し、これらの分析に分光光度計(DR5000, HACH 社製)を用いた。ここで、硫化物とは、硫化物イオン(S^{2-})も含めた、硫化水素(H_2S)、硫化水素イオン(HS^-)および酸可溶性金属硫化物の化合物を指し、測定結果は S^{2-} の濃度として表示される。また、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の分析には、アンモニアと高い選択性・反応性を有する臭素を用いた電量滴定式アンモニア計(AT-2000 型, セントラル科学社製)を用いた。さらに、TOC・DOC の測定には、湿式紫外線酸化-ガス透過膜式導電率測定方式の TOC 分析計(900 ラボ

型, セントラル科学社製)を使用した。

2.2 実験条件

水域の貧酸素・無酸素化に起因して最初に生じる水質変化が脱窒であり, これが段階的に進む嫌気性微生物による還元半反応に及ぼす影響は大きい。この脱窒による影響を定量的に検討するために, 貧酸素・無酸素化時の硝酸イオン濃度に着目し, 水質実験開始時の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度 (以下, 初期 $\text{NO}_3\text{-N}$) が異なる4ケースを実験条件として設定した。なお, この濃度の設定にはイオンクロマトグラフ用硝酸イオン標準液を使用し, サンプルした貯留水に加えることで目標濃度に調整した。各ケースの水質実験開始時の水質を水質初期条件として表 1 にまとめる。また, 全ケースで用いた底質は黒色軟泥のいわゆるヘドロである (原田ら, 2014)。表 2 に示すように, 底質の化学的特性値はケースによらず同程度であり, 底質の違いが実験結果に及ぼす影響は極めて小さいといえる。

表 1 中の初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ は, サンプル実施の貯水池を含む有機汚濁・富栄養化水域を対象とした著者らによるこれまでの観測結果を踏まえた条件設定である。各ケースで想定される水質汚濁水域の水環境工学的な特徴は以下の通りである。

まず, Case 1($\text{NO}_3\text{-N}$: 0.03mg/l)では $\text{NO}_3\text{-N}$ が概ねゼロであり, 植物プランクトンの光合成による栄養塩の取り込みが活発となる夏季の富栄養化水域, あるいは貧酸素・無酸素化に伴う脱窒が生じるような有機汚濁水域が想定される。また, Case 2 (同: 0.10mg/l) は植物プランクトンによる取り込みが減少した秋季の水域を想定した低濃度のケースである。Case 3 (同: 0.35mg/l) は次のいずれかの水域が想定される高濃度の条件設定である。一つは, 低水温や低日射量による光合成の制限が強く, 植物プランクトンの取り込みが極端に少ない冬季の富栄養化水域である。あるいは, 鉛直混合に伴う水温成層の消滅によって無酸素状態が解消され, 底質から溶出した $\text{NH}_4\text{-N}$ の硝化が促進された結果, $\text{NO}_3\text{-N}$ が増大するような秋季以降の有機汚濁水域である。さらに, $\text{NO}_3\text{-N}$ の高濃度が及ぼす影響を明確に把握するための実験条件として, Case 4 (同: 0.91mg/l) を設定した。

表 1: 実験条件 Case 1~Case 4 の水質初期条件

項目	単位	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
$\text{NO}_3\text{-N}$	mg/l	0.034	0.098	0.337	0.912
$\text{NH}_4\text{-N}$	mg/l	0.407	0.483	0.450	0.545
$\text{PO}_4\text{-P}$	mg/l	0.004	0.008	0.014	0.014
TOC	mg/l	5.85	4.95	4.35	3.82
DOC	mg/l	4.56	4.41	3.96	3.54
硫化物	μg/l	5.0	8.0	5.0	3.0
SO_4^{2-}	mg/l	8.62	8.79	8.31	8.47

表 2: 実験条件 Case 1~Case 4 の底質の化学的特性

項目	単位	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
ORP	mV	-130	-132	-139	-127
硫化物	mg/g	0.19	0.14	0.18	0.16
強熱減量	%	12.1	12.0	12.7	12.8
pH	—	7.15	7.03	7.09	6.68

3 結果と考察

3.1 嫌気的条件下でのORPの動態特性

図 2 に, 各ケースの DO と ORP の連続測定結果を示す。また, 参照データとして, 水温と pH の測定結果を図 3 に示す。図 2, 図 3 の時間軸の経過日数は, 前節で既述の実験開始時を基準としている。各ケースともに DO と ORP は経過日数 10~20 日の間で顕著な低下を示し, それ以降, DO はゼロ, ORP は約-400mV の一定値で推移した。そこで, DO の減少とそれに伴う ORP の低下過程を明確に図示するために, 図 2 では主に実験開始から 20 日経過

図 2: DO および ORP の連続測定結果

図 3: pH, 水温の測定結果

表 3: DO の低下速度

	単位	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
低下速度	mg/(l・d)	-0.649	-3.541	-0.668	-0.276
相関係数	-	-0.87	-0.92	-0.98	-0.82

表 4: ORP の低下速度

		単位	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
Step 1	低下速度	mV/d	-478.2	-140.4	-317.9	-35.0
	相関係数	－	-0.97	-0.84	-0.99	-0.99
Step 3	低下速度	mV/d	-407.0	-123.0	-319.9	-116.5
	相関係数	－	-0.99	-0.97	-0.99	-0.98

後までの経時変化を示した。また、同図の結果から DO および ORP の低下速度を線形回帰によって求め、その値を表 3 および表 4 にまとめるが、直線近似の対象区間に関しては後述する。

全ケースに共通して、DO は実験開始直後から単調に低下し、ある時点でゼロとなった。表 3 に示した DO の低下速度は、低下開始からゼロになるまでの区間の線形回帰により求められた値であり、同表より、全ケースで良好な回帰直線が得られたことが分かる。ただし、初期 NO₃-N と DO の低下速度との間に明確な関連性は見出せない。DO の低下速度を規定する要因の把握が今後の課題として挙げられる。

ところで、ORP は酸化・還元物質の濃度比に加えて pH や水温などの要因に依存する。図 3 に示したように、各ケースに共通して実験期間中の pH と水温の経時的な変化は極めて小さい。すなわち、図 2 は pH と水温が一定の条件のもとでの測定結果であることから、本実験において、全ケースの ORP の低下という変化に対して生物化学的反応の温度や酸・アルカリ性への依存性の影響は小さく、主に、酸化・還元物質の濃度比の影響が強いと考えられる。

したがって、以下では pH と水温との関連性を考慮せず、ORP の経時変化のみに着目した考察を行う。

図 2 に示すように、Case 1 では、実験開始から 3 日後 (点 a) に DO < 1.0mg/l で ORP は低下し始め、経過 4 日目 (点 b) に ORP が 0mV 付近で一時的に低下が止まった。その後、ORP は約 -300mV まで急激に減少すると、点 c 以降緩やかな低下を示し、8 日経過後 (点 d) に約 -400mV の平衡状態に至った。他のケースでも図 2 中の点 a～点 d で示す同様な ORP の変化過程を見出せた。すなわち、低下開始後の ORP は、Case 2 では 5 日経過後に、Case 3 では 7 日経過後に、Case 4 では 10 日経過後に一時的な低下の停止を経て、約 -300mV の値まで急激に減少した。次いで、ORP の変化は、Case 2, Case 3 では 8 日経過後に、Case 4 では 13 日経過後に、緩速的な低下に移行した。そして、Case 2, Case 3, Case 4 の順に実験開始から 12 日、14 日、17 日経過後に、ORP は約 -400mV の平衡状態に達した。

以上より、全ケースに共通して見出せる特徴を基に、ORP の経時変化を図 4 に示す曲線でモデル化した。同図のように、DO 低下以後の ORP の動態特性は Step 1～Step 5 の 5 段階によって次のように表される。まず、Step 1 は好気的狀態から嫌氣的狀態への遷移段階であり、ORP は正の範囲で直線的な減少を示す。次に、Step 2 は無酸素化に伴う酸化的狀態から還元的狀態への移行点であり、ORP が 0mV の付近で一時的に低下が止まった点を表す。Step 3 以降は ORP が負の値の還元的狀態にあり、Step 3 は ORP の急速的な減少段階、Step 4 は ORP の緩速的な減少段階、そして Step 5 は最低下電位の一定値で推移する平衡状態を表す。

ORP の低下過程のうち、直線的な変化を示した Step 1 ならびに Step 3 について、その低下速度を線形回帰によって求めた結果を表 4 に示す。同表を踏まえて、Case 1～Case 4 の初期 NO₃-N による ORP の低下過程の相違点を Step 1～Step 5 の各 Step で見出したところ、次のようにまとめられた。まず、Step 1 での ORP の低下速度は Case 1 で最大、Case 4 で最小を示し、DO が存在する条件下では、初期 NO₃-N の高濃度によって ORP の低下は遅くなる結果を得た。Step 2 では、0～100mV の範囲の違いではあるが、初期 NO₃-N が高濃度であるほど無酸素化時の ORP は高い値を取る傾向にあった。表 4 にまとめたように、Step 3 の ORP の低下速度は、Step 1 と同様に、初期 NO₃-N が大きいほど小さい値を示した。Step 4 については、変化過程にあてはまる回帰曲線を見出せなかったため、緩速的な低下の継続期間に着目したところ、初期 NO₃-N の高濃度によってその期間が長期化した。同様に、Step 5 では、実験の開始から同ステップに至るまでの期間を比較したところ、初期 NO₃-N が高濃度であるほど平衡到達までに時間を要する

図 4: ORP 低下のモデル図

傾向がみられた。以上のことから、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ はその後の全段階を通じたORPの低下速度を規定する要因であるといえ、これによって還元半反応の段階的な推移も大きな影響を受けると推察できる。

3.2 嫌気的条件下での栄養塩・硫化物の動態特性

前節の実験概要の通り、サンプルビーカー間のばらつきを考慮して、定期的な水質分析を3～5連で行った。その分析結果の一例として、図5にCase 1の主要な測定項目の結果をまとめる。同図中のエラーバーは、複数のサンプルに対して得られた分析結果の最大・最小値を表したものであり、ドットはサンプル平均値である。図5より、測定項目によっては、実験開始から経過日数が長くなるほど、最大・最小値の差が大きくなり、とくに硫化物でその傾向が顕著であった。

以下では、図5に示したようなサンプル平均値を用いて、図6以降にまとめる $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、硫化物、 SO_4^{2-} 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、DOCおよびTOCの実験結果を考察した。なお、同図中の矢印付き点線は $\text{DO}=0$ の時点を表す。各水質濃度の時間的な変化過程を線形回帰式あるいは非線形回帰式で評価し、その一部の回帰式と相関係数 r を図中に示した。なお、式中の C は濃度であり、 t は図6以降の時

間軸と同様に濃度の減少または増加の開始時点点をゼロとする経過日数である。また、図6以降の図中の2本の縦破線で区分される期間を対象に、水質濃度の増加あるいは減少の経時変化に関する回帰分析を行った。次項では、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、硫化物、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の順に、これらの動態特性をStep 1～Step 5のORPの段階的低下と関連付けて考察した。また、回帰分析結果に基づき、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が嫌気的条件下での $\text{PO}_4\text{-P}$ 、硫化物、 $\text{NH}_4\text{-N}$ ならびにDOCの動態に及ぼす影響について検討した。

3.2.1 硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$)

図6より、Case 1において $\text{NO}_3\text{-N}$ は実験期間を通じて概ねゼロで推移した。一方、Case 2～Case 4ではDOの低下開始とともにORPのStep 1～Step 5の全段階を通じて直線的に減少し、ある時点で概ねゼロとなった。Case 1を除き、同図中の直線は線形回帰の結果を表し、図中の回帰式より $\text{NO}_3\text{-N}$ の減少速度はその初期濃度が高いほど大きいことが分かる。ここで、嫌気的条件下での $\text{NO}_3\text{-N}$ の減少は主に脱窒により生じることから、脱窒を主要要因とする $\text{NO}_3\text{-N}$ の減少速度はゼロ次反応式で表されるといえる。すなわち、 $\text{NO}_3\text{-N}$ の減少速度は時々刻々の $\text{NO}_3\text{-N}$ に比例するのではなく、嫌気的に至った時点でのその濃度に依存する定数で決定され则认为てよい。

3.2.2 リン酸態リン ($\text{PO}_4\text{-P}$)

図7より、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は全ケースに共通して実験開始後から直線的に増加したものの、その後 $\text{DO}=0\text{mg/l}$ の嫌気的狀態に至ってから、その濃度は対数的に上昇し、ケースによって異なるある一定値へと漸近した。ここで、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の増加の要因として、好気的あるいは嫌気的な有機物分解に伴うリン酸イオンの遊離・生成が挙げられるが、さらに嫌気的条件下では鉄還元に伴う $\text{PO}_4\text{-P}$ の溶出が加わる。これは、リン酸イオンと共同沈殿していた Fe^{3+} が還元されて Fe^{2+} として水中へ溶出する際に $\text{PO}_4\text{-P}$ も水中に放出される現象である(武田, 2001)。これらの点を踏まえてORPの経時変化と関連付けると、実験条件に関係なく、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の増加要因

図 5: Case 1 の定期測定結果

図 6: $\text{NO}_3\text{-N}$ の経時変化と回帰直線

図 7: PO₄-P の経時変化と回帰曲線

として以下のことを考察できる。まず、実験開始以降の直線の増加は、ORP が正の範囲にあることから、好気的条件下での有機物分解に起因すると考えられる。次に、DO=0mg/l 以降に PO₄-P が急激に増加したが、これは ORP が Step 2 に至った時点と概ね一致した。嫌氣的な有機物分解による生成に加えて、鉄還元によるリン酸溶出が時間の経過により顕著なものとなり、PO₄-P が対数的に増加したものと推察される。また、各ケースともに、PO₄-P のある一定値への漸近的な変化が、ORP の段階的な変化のうち Step 5 で確認できる。これは、Fe³⁺から Fe²⁺への還元反応がほぼ平衡状態に達し、リン酸イオンの増加要因が嫌氣的有機物分解のみとなったことを意味すると考えられる。

図 7 より、対数近似により求められる片対数グラフ上の回帰曲線の傾きは全ケースともに同程度であり、初期 NO₃-N による違いは見られなかった。一方、PO₄-P が対数的に増加するまでに掛かる時間は、初期 NO₃-N が低濃度の場合の Case 1, Case 2 に比べて、高濃度のケースである Case 3, Case 4 で長くなる傾向を見出せる。また、Case 3, Case 4 では対数的な濃度変化に至るまでに PO₄-P が直線的に増加することを、Case 1, Case 2 の結果と比較してより明確に確認できる。以上から、初期 NO₃-N が PO₄-P の動態に及ぼす影響は対数的増加に至るまでの期間に限定されることが示唆された。

3.2.3 硫化物

図 8 より、硫化物は全ケースに共通して 2 段階の直線的な増加を示した。そこで、段階ごとに硫化物の経時変化を線形回帰で近似し、その結果を同図中に示す。また、各段階の硫化物の増加速度を表 5 にまとめる。なお、二つの回帰式においていずれも良好な相関係数が得られるように、線形近似を当てはめる区間を定めた。

一定値へと漸近する PO₄-P, NH₄-N とは異なり、硫化物は、2 段階目の直線的な増加以後に急激に減少する傾向を示した。また、硫化物の経時変化を ORP のそれと併せて考察すると、Step 4 へ移行した時点で硫化物は増加し、いずれの条件でもその時点から約 10 日間、直線的に増大し

図 8: 硫化物の経時変化と回帰直線

図 9: SO₄²⁻の経時変化

表 5: 硫化物の増加速度

単位		Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
1 段階	増加速度 mg/(l・d)	1.81	2.63	2.33	3.80
	相関係数	0.83	0.87	0.82	0.95
2 段階	増加速度 mg/(l・d)	4.18	16.2	3.75	1.86
	相関係数	0.84	0.99	0.89	0.88

た。その後、Step 5 の PO₄-P が定常に至った時点と概ね同じタイミングで硫化物は異なる傾きで急激に増加したが、ある時点で減少傾向に転じた。このような硫化物の減少は、貯水池を対象としたモニタリングでも観察されており(原田ら, 2014)、実水域と同様の動態を示したといえる。

ここで、硫化物は硫酸還元菌の働きによって SO_4^{2-} が S^{2-} へと還元されることで増加する。硫酸還元の生じる目安は標準酸化還元電位(Eh)で -180mV 程度であるといわれている(阿部・半谷, 1976)。そこで、各ケースの硫化物の増加開始時点に着目すると、全ケース共通して、ORP が約 -350mV (Eh で約 -150mV) に達した時点から増加していることを確認できる。このことから、電位的に硫酸還元に適する環境となったことで、硫酸還元が開始したといえる。

次に、直線的な 2 段階の増加過程を示した理由について考察する。硫酸還元反応は、脱窒や鉄還元との競合下では制限される(古坂, 1986)。ここで、2 段階目の増加開始のタイミングに着目すると、鉄還元反応に伴って増加した $\text{PO}_4\text{-P}$ が定常に至った時点と概ね一致することから、鉄還元との競合のない条件によって硫化物の増加速度が高められたと考えられる。以上から、鉄還元による硫酸還元の制限によって、硫化物は 2 段階的な増加を示したと推察される。また、発生した S^{2-} は速やかに水素と反応して硫化水素となるほか、 Fe^{2+} といった金属とも結合し、水底に沈殿する(鈴木・安部, 2005)。したがって、 S^{2-} の測定結果は、発生した硫化物から金属硫化物となり底質表層に沈積したものが差し引かれた見かけの発生量であるといえる。さらに、図 9 の測定結果より、硫化物が最大値に達した以後、 SO_4^{2-} がほぼ一定で推移したことが読み取れ、硫酸還元反応は平衡状態に至ったことが分かる。以上から、硫化物イオンの発生量が概ねゼロのもと、金属硫化物などの沈殿が生じたために硫化物が減少傾向に転じたと考えられる。しかし、本研究では鉄イオンを始めとする金属陽イオンの分析を行っていないため、生成した硫化物の挙動の解明は難しく、この点が今後の課題として挙げられる。

つづいて、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が硫化物の経時変化に及ぼす影響を検討するために、2 段階の各増加過程の回帰式を比較した。表 5 より、1 段階目の増加に関してはほぼ同程度の増加率であった一方で、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度であるほど、2 段階目の増加期間が長期化した。さらに、Case 1 ~ Case 3 に着目すると、初期濃度が高いほど硫化物の最大値は大きい値を示した。硫酸還元菌の基質となる有機酸は、他の嫌気性微生物の呼吸に伴う有機物分解の結果生成される。つまり、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度であるほど脱窒菌の活性が高まり、有機酸が多く生成される。これにより硫酸還元菌の働きが強まったため、硫化物の最大値が大きくなったと考えられる。一方で、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度であるほど、2 段階目の増加率が小さくなった。これは、既述のように、硫化物の増加期間が長期にわたったことで、金属硫化物の沈殿量が増加し、結果的に検出される値が小さくなったためであると推察される。加えて、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が最も高い Case 4 では硫化物の増加量が Case 1 と同程度となったのも、上述の要因によると考えられる。

3.2.4 アンモニア態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$)

図 10 より、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は DO の低下開始から急激な増加率で上昇し始め、その後緩やかな増加へと変化した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ の増加が緩やかになった時点を ORP の経時変化に重ねると、これは ORP の Step 5 に移行した時点と概ね一致する。さらに、それ以後の $\text{NH}_4\text{-N}$ はある一定値へと漸近し、そのタイミングは、硫化物が最大値を示す時点と概ね一致した。ここで、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の増加は、嫌気的な有機物の分解過程で副産物的に生成されることに因ると考えられる。したがって、前半の $\text{NH}_4\text{-N}$ の急激な増加は脱窒菌や鉄還元菌による

図 10: $\text{NH}_4\text{-N}$ の経時変化と回帰曲線

嫌気的呼吸と強い関係性を示し、一方、後半の緩やかな増加は主に硫酸還元に伴う有機物分解に起因すると考えられる。また、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ の高濃度による影響は以下の通りである。前半では、脱窒が活発化したことで $\text{NH}_4\text{-N}$ の急激な増加期間が長期化し、増加量も大きくなった。後半については、大きな違いは見出せず、硫酸還元が及ぼす影響は小さいといえる。これらのことから、好氣的から嫌氣的へと状態が遷移した時点の高濃度の $\text{NO}_3\text{-N}$ は、脱窒・鉄還元菌に関わる嫌気性有機物分解を活性化し、底質からの溶出による $\text{NH}_4\text{-N}$ の内部負荷を大きくする要因になり得ると考えられる。

3.2.5 溶存態有機物 (DOC)

図 11 に DOC の経時変化と回帰曲線を示す。また、図 12 に TOC および懸濁態有機物 (POC) の経時変化をまとめる。ここで、POC は TOC と DOC の差で表される。DOC、POC ともに線形的な経時変化を示さなかったことを踏まえ、増加特性をより明確に表すために両図では時間を対数軸とした。

DOC もまた $\text{NH}_4\text{-N}$ と同様に嫌気的な有機物分解の結果、副産物として増加する物質として考えられるものの、それとは異なる動態を示した。図 11 より、全ケースに共通して DO の低下開始とともに DOC は片対数上で単調に増加したが、およそ 30 日経過後にさらに異なる傾きで増大した。そして、2 段階目の増加への切り替わりは、ORP の段階的低下のうち Step 5 における硫化物の 2 段階目の上昇のタイミングと概ね一致した。

ここで、DOC の増加は、水中の POC の分解余剰物生成と底質からの溶出(Chen *et al.*, 1997)の二つの要因によって生じる。その一方で、DOC は無機化によって減少する。しかし、嫌気的条件下の DOC の分解速度は好氣的条件下のそれと比べて小さい(Wang *et al.*, 2007)。したがって、二つの主要因による DOC の増加量がその無機化による減少量を上回った結果、図 11 のような経時変化を示したと考えられる。また、図 12 より、TOC も DOC と同様な増加傾向を示し、両者の差である POC は減少することなく、経時的に一定値で推移したことを確認できる。このことから、

図 11: DOC の経時変化と回帰曲線

図 12: TOC と POC の経時変化

表 6: 対数近似による DOC 経時変化の解析結果

		単位	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
1 段階	勾配	mg/l	0.482	0.736	0.624	0.777
	相関係数	—	0.82	0.91	0.89	0.83
2 段階	勾配	mg/l	2.16	3.88	5.10	5.65
	相関係数	—	0.91	0.96	0.93	0.85

※勾配: 片対数グラフ上の回帰曲線の傾き

DOC 増加の主要因として底質からの溶出が挙げられる。これは、高分子有機化合物の加水分解および底生微生物の呼吸によって底質中の有機物が低分子化し、有機酸

が増加したことによる拡散フラックスを意味する。また、後半の DOC 増加が硫化物の 2 段階目の増加時点と概ね一致したことから、この濃度変化は硫酸還元細菌の嫌気性呼吸が強く関連すると考えられる。つまり、脱窒で低分子化した有機物を利用して硫酸還元菌が呼吸を行い、その結果、さらに低分子化されたことで溶存性に变化したと推察され、このことが、2 段階的な増加過程を示した理由として考えられる。

DOC の経時的な変化特性を検討するために、対数近似により求めた片対数グラフ上の回帰曲線の傾きを代表的な増加速度と見なした。ただし、図 11 に示す破線で DOC の経時変化を二つに分割し、表 6 に示すように、各段階で増加速度を求めた。同表より、初期条件による DOC の経時変化を比較すると、1 段階目の DOC の増加速度は初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ に因らず同程度であった。一方、2 段階目の回帰曲線の傾きは初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度であるほど大きい。上述のように、DOC の 2 段階目の増加は硫酸還元と強く関連し、また硫酸還元菌の活性は高濃度の初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ によって高まる。このことから、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度であるほど、硫酸還元に伴う嫌気的な有機物分解が活発化し、その結果として DOC の溶出総量が多くなることが示された。

4 おわりに

本研究では、有機汚濁水域の無酸素化に起因する水環境劣化の発生メカニズムの究明を目指し、ピーカスケールでの室内実験を通じて、底質近傍の嫌気的条件下における $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、硫化物の動態特性を二つの観点から定量的に評価した。まず、これらの水質動態は嫌気性微生物が関わる酸化還元反応に由来することに着目した。無酸素状態の ORP の変動特性を明らかにし、この特性と関連付けて水質の動態特性を検討した。次に、脱窒が嫌気的条件下での段階的に生じる還元反応において最初に生じる反応であるとの見地に着目した。好氣的から嫌氣的への状態が遷移した時点での硝酸イオンが、それ以後の嫌気的条件下での生物化学的な水質動態に及ぼす影響は大きいと考え、この $\text{NO}_3\text{-N}$ を環境要因とした実験結果の考察を行った。その結果を以下の通りまとめる。

- (1) 無酸素状態の ORP の動態は、Step 1 ($\text{DO} < 2.0 \text{ mg/l}$ を起点とする直線的低下)、Step 2 (概ね 0 mV での変曲点)、Step 3 (還元的状態での急激な低下)、Step 4 (還元的状態での緩やかな減少)、Step 5 (約 -400 mV の平衡状態) の 5 段階で特徴付けられる。また、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ は全段階を通じて ORP の低下速度を規定する要因であり、それが高濃度であるほど ORP が Step 5 の平衡状態に至るまでの時間は長期化する。
- (2) DO 低下に伴う $\text{NO}_3\text{-N}$ の減少は、嫌氣的に至った時点での $\text{NO}_3\text{-N}$ に依存する定数で決定されるゼロ次反応速度式で表され、その減少速度は初期濃度が高いほど大きい。
- (3) 嫌氣的条件下での $\text{PO}_4\text{-P}$ は、ORP が Step 2 に至った時点からの急激な増大と、Step 5 でのある一定値への漸近的な変化を示し、一連の増加過程は対数近似式で良好に表される。また、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が $\text{PO}_4\text{-P}$ の動態に及ぼす影響は対数的増加に至るまでに要する時間に限定される。
- (4) 硫化物は傾きの異なる 2 段階の直線的な増加過程を示す。すなわち、ORP の Step 4 への移行とともに硫化物は増加し、その後の Step 5 の $\text{PO}_4\text{-P}$ が定常に至った

時点と概ね同じタイミングで異なる増加速度で上昇する。また、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度であるほど、2段階目の増加率は小さくなるが、増加期間は長期化する。

- (5) $\text{NH}_4\text{-N}$ はDOの低下開始から急激な増加率で上昇し、脱窒菌や鉄還元菌による嫌氣的呼吸と関係性を示す。その後のORPがStep 5に達した時点以降に、硫酸還元との強い関連性のもと、 $\text{NH}_4\text{-N}$ はある一定値へと漸近するような緩やかな増加へと変化する。また、初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度であると、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の急激な増加期間が長期化し、増加量も大きい。
- (6) DOの低下開始とともにDOCは片対数上で直線的に増加し、その後、硫化物の2段階目の増加と概ね同じタイミングで、異なる傾きで濃度は上昇する。初期 $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度であるほど硫酸還元に伴う有機物分解が活発化し、その結果としてDOCの溶出総量が増大する。

以上の成果は、無酸素状態のORPの変動特性に関する知見と、貧酸素時点の $\text{NO}_3\text{-N}$ の情報を併用することで、ORPの現地モニタリング結果を通じて栄養塩や硫黄化合物の動態を簡便的に推定できることの可能性を示すものである。

最後に、本研究で得られた上記6点の知見の意義を環境水理学的な視点からまとめる。閉鎖性水域における水環境の数値的手法による動態解析として、窒素、リン、溶存酸素などを状態変数とする生態系モデルが用いられ（例えば、齋ら、2008）、水域水環境における環境変動に対するリスク評価や水質改善対策の影響評価において果たす役割は大きい。また、 Chl.a やDOの数値計算を通じて富栄養化・有機汚濁現象に関する有益な知見が得られている（例えば、原田ら、2009; Harada *et al.*, 2013）。しかしながら、貧酸素・無酸素状態が長期化するような水域を対象とする場合、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ の栄養塩に関する実測値と計算値の乖離は大きくなるとの指摘もある（例えば、Do *et al.*, 2010; Do *et al.*, 2015）。これは、単にモデルパラメータの設定の問題だけではなく、無酸素化に伴う窒素・リンの内部負荷のモデル化に不備があることを意味する。また、無酸素化水域で大きな水環境問題となる硫化物の動態を生態系モデルで取り扱った研究例は皆無である。これらの課題を克服するためには、脱窒、鉄還元、硫酸還元といった嫌氣的条件下での生物化学的反応による水質動態特性を生態系モデルに反映させる必要がある。本研究で得られた結果は、生態系モデルの中に嫌氣的な微生物代謝を組み込む上での基礎的知見を与えるものである。

謝辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費助成事業・基盤研究(B)(課題番号23380144)、同・基盤研究(C)(課題番号15K07649)の支援を受けた。ここに記して感謝の意を表す。

引用文献

- [1] 安部喜也・半谷高久 翻訳 (1976): 一般水質化学(下), 共立出版, p.299.
- [2] Chen, R. F., Chadwick, D. B., and Liberman, S. H. (1997): The application of time-resolved spectrometry to measuring benthic fluxes of organic compounds, *Organic Geochemistry*, 26, pp.67-77.
- [3] Do, T. N., Harada, M., and Hiramatsu, K. (2010): Evaluation of the water-quality dynamics in a eutrophic agricultural pond by using a one-box ecosystem model considering several algal groups, *Paddy and Water Environment*, 8(4), pp.301-318.
- [4] Do, T. N., Yoshimura, Y., Harada, M., and Hiramatsu, K. (2015): Generation of hydrogen sulfide in the deepest part of a reservoir under anoxic water conditions, *Paddy and Water Environment*, 13(1), pp.101-113.
- [5] 原田昌佳・平松和昭・齋藤孝・森牧人・丸居篤 (2009): 寡少な水中光環境下にある富栄養化水域の水質の動態特性, 日本雨水資源化システム学会誌, 14(2), pp.87-96.
- [6] Harada, M., Douma, A., Hiramatsu, K., Do, T. N., and Marui, A. (2013): Analysis of Seasonal Changes in Water Qualities in Eutrophic Reservoirs in a Flat Low-lying Agricultural Area Using an Algae-based Ecosystem Model, *Irrigation and Drainage*, 62 (Suppl. 1), pp.24-35.
- [7] 原田昌佳・平松和昭・福田信二 (2014): 有機汚濁が進む閉鎖性水域の嫌氣的・還元的条件下での水質動態, 日本雨水資源化システム学会誌, 20(1), pp.49-55.
- [8] 古坂澄石 (1986): 硫酸還元菌, アーバン&シュワンナー, 25, pp.32-41.
- [9] 武藤暢夫・金甲守 (1986): 都市河川等における水、底泥の酸化還元電位の測定方法と測定値の評価, 水質汚濁研究, 9(2), pp.104-112.
- [10] 西岡寿尊・原田昌佳・平松和昭・田畑俊範 (2016): 有機汚濁水域の嫌氣的条件下での水質動態に関する実験的研究, 日本雨水資源化システム学会誌, 21(2), pp.13-21.
- [11] 齋幸治・原田昌佳・平松和昭・森牧人 (2008): 低次生態系-3次元流体力学モデルを用いた鳥取県東郷池の溶存酸素の動態解析, 農業農村工学会論文集, 76(3), pp.257-266.
- [12] 寒川喜三郎・日色和夫 (1996): 最新の底質分析と化学動態, 技報堂出版, pp.77-97.
- [13] 鈴木穰・安部千雅 (2005): 底泥-水間の物質移動に関する調査, 国土技術政策総合研究所資料, 263, pp.209-216.
- [14] 武田育郎 (2001): 水と水質環境の基礎知識, オーム社, pp.23-74.
- [15] Wang, X. C., Litz, L., Chen, R. F., Huang, W., Feng, P., and Altabet, M. A. (2007): Release of dissolved organic matter during oxic and anoxic decomposition of salt marsh cordgrass, *Marine Chemistry*, 105, pp.309-321.

この論文の公開の質疑または討議は2017年12月31日まで受け付けます。