様　式　C－19、F－19－1、Z－19　(共通)

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 29 年　 8 月　 8 日現在

機関番号：51401
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2015～2016
課題番号：15K14060

研究課題名（和文）安定同位体比とメタゲノム解析による河川における亜酸化窒素の動態把握と重要性評価

研究課題名（英文）Comprehensive evaluation of nitrous oxide emission in river using the stable isotope ratio and gene approach

研究代表者
増田　周平（Masuda, Shuhei）
秋田工業高等専門学校・その他部局等・准教授
研究者番号：70552157

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では，河川における溶存態亜酸化窒素（N2O)濃度，硝酸性窒素に対するN2O転換率，底質におけるN2O生成ポテンシャルを明らかにした。長期的には，溶存態N2O濃度は初夏に高くなる傾向にあった。一方で，通日変動の傾向は調査の時期によって異なった。硝酸性窒素のδ18Nおよびδ15Nの傾向より，外部より窒素負荷が流入した場合にN2O濃度が上昇することが示された。なお，底質の細菌叢とN2O濃度の関連性は明らかではなかった。また底質のN2O生成ポテンシャルは，アンモニア性窒素が流入する河川においては，河川底質の硝化にともなうN2O生成ポテンシャルが高いことが示された。

研究成果の概要（英文）：Characteristics of nitrous oxide in rivers such as concentrations, emission ratio of nitrate, and N2O production potential in the river bed were investigated. The N2O concentration increased in early summer based on the long-term survey. Alternatively, the daily variation was observed only in the river that receives nitrogen load, however the pattern was not consistent. Based on the profiles of δ15N and δ18O in nitrate, dissolved N2O concentration increases when the nitrogen compounds inflows to the river. The gene profiles of sediments and N2O concentration was not clear. The N2O production potential was found to be different depending on the nitrogen load qualities. Specifially, the N2O production potential with nitrification in the river bed was high in the rivers that receives ammonium nitrogen.

研究分野：環境工学

キーワード：亜酸化窒素　河川　下水処理場　季節変動　通日変動　底質

１．研究開始当初の背景

地球温暖化問題が提起されて以来，温室効果ガス(GHGs)の削減は人類共通の重要課題である。GHGs の中でも，亜酸化窒素(N_2O)は CO_2 の 298 倍もの強力な温室効果を持ち，オゾン層破壊効果も併せ持つ重要なガスである．

既往の研究においては，N_2O の生成・消失・移動の場としての河川の重要性や，発生メカニズムの解明の必要性が示されている。一方で，外部からの窒素負荷の流入にともなう N_2O 濃度および転換率の変化に関する知見は不足しており，その定量的評価はなされていない。また近年は技術革新により，安定同位体比による流域解析やメタゲノム解析による細菌叢の解析が環境分野の研究において利用されつつあり，これらの技術を駆使して N_2O 生成量と河川底泥等の生成環境の関係性を明らかにすることで，N_2O の生成メカニズムを解明できる可能性があると考えられた。

２．研究の目的

（１）河川における N_2O の生成メカニズムを，外部からの窒素負荷の有無に着目し，定量的に明らかにする。

（２）異なる河川底泥が有する N_2O 生成ポテンシャルを，室内実験により明らかにする。

３．研究の方法

（１）河川における網羅的 N_2O 実態調査

秋田県八郎湖流域において，河川の溶存態 N_2O 濃度の実態調査を行い，その面的分布と季節変動を明らかにした。対象流域に複数のサンプリング地点を設け，N_2O および水質の濃度分布を面的に明らかにした．

調査頻度は月に一度とし，雨の影響を避けるために晴天下において実施した．また，複数の河川を対象に通日調査を行い，N_2O の変動特性を通日単位で明らかにした。測定項目は，溶存態 N_2O，TOC，T-N，無機態窒素(NH4+, NO2-, NO3-)，pH，水温とした．溶存態 N_2O は ECD ガスクロマトグラフ（shimadzu.co）を用いて，ヘッドスペース法により分析した。あわせて，硝酸性窒素の δ15N および δ18O を分析することで，窒素の起源解析を行うとともに，底質の細菌叢解析を行い，N_2O 生成との関係性を評価した。

（２）河川底質の N_2O 生成ポテンシャル評価試験

河川底質および直上水を採取し，N_2O 生成ポテンシャル評価試験を行った。硝化および脱窒由来の N_2O 生成量を評価するため，現場より底質を採取し，室内においてそれらの反応に最適な条件を形成し，N_2O の増加量を測定することで N_2O 生成ポテンシャルを評価した。

４．研究成果

（１）外部窒素負荷のない流域における亜酸化窒素排出量の評価[4)7)]

八郎湖流域における長期調査の結果に基づき，外部窒素負荷のない河川における亜酸化窒素濃度の分布特性を明らかにした。

図１に，８地点の溶存態 N_2O の平均値の経月変化を示す。これより，溶存態 N_2O 濃度は初夏にかけて高く，秋口にかけて減少する傾向が見られた。ただしその濃度域は一般的に低く，最大で 3.27μg/L であった。

また，NO_3^-濃度に対する溶存態 N_2O 濃度の比（排出係数：EF）は，0.0033 で与えられ，その値は従来の EF である 0.0025 とほぼ同等の値が得られた。

（２）通日変動特性[3)5-7)]

通日調査の結果に基づけば，外部窒素負荷のない河川において通日変動はほとんど見られなかった。溶存態 N_2O 濃度は一日の平均値で 0.49μg/L（A 川）ないし 0.57μg/L（B 川）で与えられた。それに対して，外部窒素負荷の流入が認められる河川（C 川）においては，溶存態 N_2O 濃度の一日の平均値は 0.85μg/L と比較的高く，さらに通日変動が認められた（図２）。ただし C 川における通日変動の傾向は一定ではなく，夜間にかけて増加し，朝にかけて減少する場合[5-7)]もあれば，日中にかけて緩やかに減少する場合[3)]もあった。

（３）安定同位体比および細菌叢解析による亜酸化窒素メカニズム評価[5)7)]

安定同位体比解析の結果，B 川においては NO_3^-の $\delta^{15}N$ は-0.37 ± 0.95(n=3)，$\delta^{18}O$ は 6.68 ± 2.90(n=3)であったのに対して，C 川では

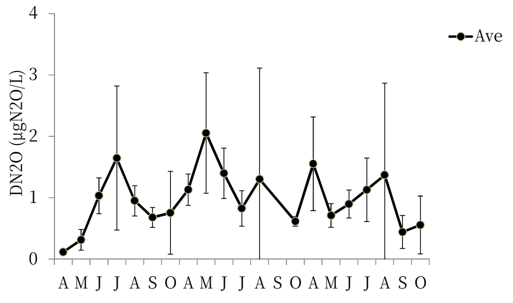

図1　八郎湖流域における溶存態亜酸化窒素濃度

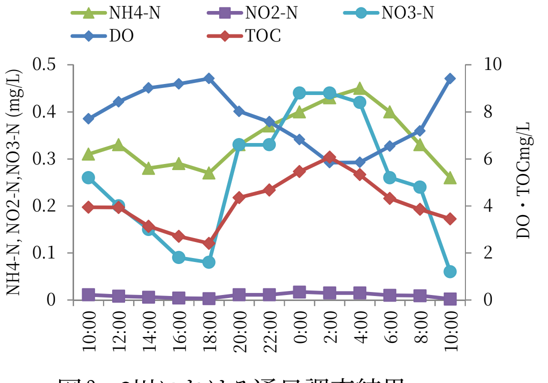

図2　C川における通日調査結果

は NO_3^-の $\delta^{15}N$ は 4.45 ± 0.63(n=12)，$\delta^{18}O$ は

2.81±1.75(n=12)であった。さらに後者の河川においては，溶存態 N_2O 濃度が大きく減少する時間帯にNO_3^-の$\delta^{15}N$が大きく減少しており，比較的清澄な河川水の流入にともなう希釈により，溶存態 N_2O 濃度が減少していると推察された。

また，底泥の細菌叢解析の結果，約 300bp の配列が平均で約 13100reads 得られた。硝化に関与する細菌では ***Nitrosomonas*** 属などもわずかに検出されたものの，***Nitrospira*** 属が優占化しており，各河川のサンプルの最大はＡ川では 1.3%，Ｂ川では 0.29%，Ｃ川では 0.27%検出された。ただし，これらの細菌叢解析の傾向と亜酸化窒素濃度との因果関係は必ずしも明確ではなかった。

（４）下水処理場の水処理工程および放流河川における亜酸化窒素発生量の一体的評価 1)

疑似嫌気好気活性汚泥法を行うＤ浄化センターと放流先のＤ川において通日調査を行い，N_2O 排出量を算出したところ，CO_2 換算で９月が 868kgCO_2/d，12 月が 3,897kgCO_2/d と見積もられた．発生源別の割合は，９月において沈砂池，最初沈殿池および汚泥処理棟由来を合計したガス態 N_2O が 0.3%，反応槽由来の直接発生が 14.8%，処理水中溶存態 N_2O のガス化が 0.9%，河川への DN_2O の放流が 5.8%，間接発生が 78.2%であったのに対して，12 月においてはそれぞれ 0.7%，66.4%，8.9%，7.1%，16.9%であった．これより，水処理工程由来の N_2O 排出量は，反応槽由来の直接発生や間接発生はもとより，処理水中の溶存態 N_2O 成分の放流後の挙動を考慮して一体的に評価することで，値を正確に算出できると考えられた。

（５）窒素成分の異なる下水処理水の放流河川から発生する亜酸化窒素特性の評価 2)

表１に河川上・下流，処理水の NH_4+ ，NO_3-，溶存態 N_2O の平均値を，図１に各河川上・下流におけるN_2Oの実測値とEFを用いた推定値の結果を示す．処理方式の違いにより異なる窒素成分の下水処理水が流入することで，Ｎ川下流では NH_4+，Ｃ川下流では NH_4+と NO_3-，Ｔ川では NO_3-が上流よりも顕著に高くなった．河川間を比較すると NH_4+はＮ川>Ｃ川>>Ｔ川，NO_3-はＣ川>Ｔ川>>Ｎ川であった．また，下流の DN_2O 実測値はＣ川(5μg/L)が最も高く，Ｎ川(3.9)，Ｔ川(3.5)の順であった．また図１より，上流域ではどの河川でも EF を用いたN_2Oの推定値と実測値に大きな差はなかった．一方下流では，Ｔ川で一致したものの，Ｎ川では実測値，Ｃ川では推定値の方が高かった．Ｎ川では硝化が，Ｃ川では脱窒抑制が原因の可能性がある．

また，表２に各河川下流の硝化･脱窒速度，NO_2^-,N_2O 生成速度の結果を示す．なお,上流では水質の変化,N_2Oの生成はほとんど見られなかった．硝化速度はＮ川とＣ川で同程度であり,Ｔ川では硝化しなかった．また脱窒速度はＮ川で高く，次いでＣ川で，Ｔ川では脱窒も認められなかった．N_2O 生成速度はＣ川で最も高く，次いで,Ｎ川,Ｔ川であった．硝化速度が 0.3(mg/min/m^2)とＣ川とＮ川で同程度であり,脱窒速度はＮ川よりも小さいＣ川でN_2Oの生成速度が高くなった理由としては,NO_2^-の蓄積が考えられる．NO_2^-の蓄積は，アンモニア酸化細菌に対して相対的に亜硝酸酸化細菌が阻害を受けていることを意味する．この場合，好気性脱窒により NO_2^-酸化反応よりも NO_2^-の還元反応が優位になり,N_2O が生成したことが考えられた．また,Ｔ川ではN_2Oの生成速度は最も低く,河川からの N_2O の間接発生の抑制には下水処理場で高度処理を行うことが有効であることが示された．

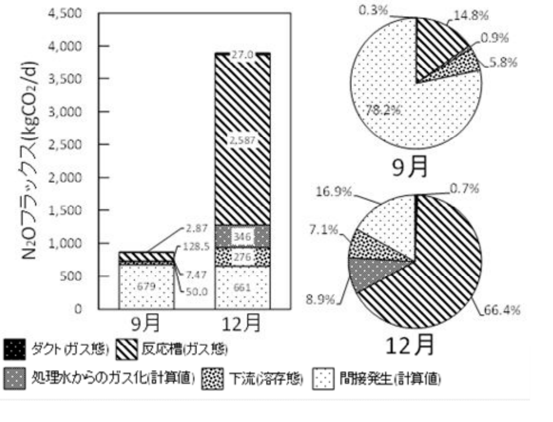

図3　D浄化センター由来のN2Oフラックスおよび発生源別割合

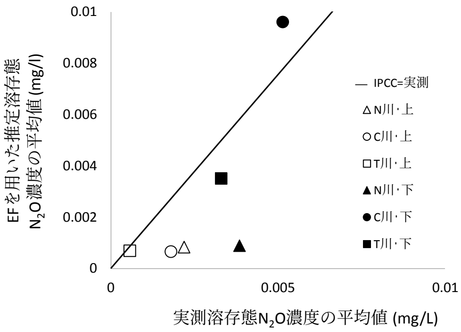

図 4. 河川上･下流におけるN_2O実測値とEFによる推定値

表1 各河川上･下流,処理水のNH_4^+,NO_3^-, DN_2O濃度の平均値

	N川			C川			T川		
水質	NH_4^+	NO_3^-	DN_2O	NH_4^+	NO_3^-	DN_2O	NH_4^+	NO_3^-	DN_2O
上流	0.28	0.37	0.003	0.09	0.2	0.002	0.16	0.31	0.005
処理水	23.2	0.43	0.01	2.9	7.9	0.03	0.14	1.34	0.013
下流	1.50	0.38	3.9	1.0	3.8	5.0	0.19	1.31	3.5

※NH_4^+,NO_3^- (mg/L)，DN_2O(μg/L)

表2 各河川下流の硝化･脱窒速度,NO_2-,N_2O生成速度

	硝化速度 (mg/min/m^2)	脱窒速度 (mg/min/m^2)	⊿NO_2^- (mg/min/m^2)	⊿N_2O (μg/min/m^2)
N川	0.30	0.25	0.00	2.5
C川	0.30	0.06	0.13	5.1
T川	0.00	0.00	0.00	0.7

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計　１　件）

1)大友渉平, 増田周平, 千種将史, 丸尾知佳子, 西村修, 下水処理場の水処理工程および放流河川における亜酸化窒素発生量の一体的評価, 下水道協会誌, 印刷中

〔学会発表〕（計　６　件）

2)佐藤丈実, 町田舟津輝, 西村修, 大友渉平, 増田周平, 窒素成分の異なる下水処理水の放流河川から発生する亜酸化窒素, 第 51 回日本水環境学会年会 , 2017 年 3 月 17 日

3)佐藤優樹, 大友渉平, 増田周平, 佐藤丈実, 西村修, 八郎湖流域の小河川における亜酸化窒素の通日変動評価, 平成 28 年度土木学会東北支部技術研究発表会 , 2017 年 3 月 4 日

4)Shuhei MASUDA, Takemi SATO, Shohei OTOMO, Chikako MARUO, Osamu NISHIMURA, Nitrous oxide profiles in Lake Hachiro from long-term and daily surveys, 18th congress of the International Society of Limnology 2016 年 8 月 1 日

5)佐藤雄哉, 増田周平, 岡野邦宏, 佐藤丈実, 西村修, 八郎湖流入河川における水質の時間的変動特性, 平成 27 年度土木学会東北支部技術研究発表会, Ⅶ-18, 2016 年 3 月 7 日

6)佐々木俊輔, 大友渉平, 増田周平, 岡野邦宏, 佐藤丈実, 西村修, 八郎湖流入河川における亜酸化窒素の通日調査, 平成 27 年度土木学会東北支部技術研究発表会, Ⅶ-17, 2016 年 3 月 7 日

7)佐藤丈実, 西村修, 丸尾知佳子, 増田周平, 大友渉平, 八郎湖流入河川における溶存態N_2Oの実態調査, 日本水環境学会第３回東北支部研究発表会, p.21, 2016 年 1 月 9 日

〔図書〕（計　0　件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計　0　件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計　0　件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

６．研究組織
(1)研究代表者
増田周平（MASUDA, Shuhei）
秋田工業高等専門学校　創造システム工学科　土木・建築系　准教授
研究者番号：70552157

(2)研究分担者
西村修　（NISHIMURA, Osamu）
東北大学大学院　工学研究科　教授
研究者番号： 80208214

見島伊織（MISHIMA, Iori）
埼玉県環境科学国際センター
水環境担当　専門研究員
研究者番号：00411231

(3)連携研究者
（　　）

研究者番号：

(4)研究協力者
（　　）